الفصـــل الخـامـــس

– تحليل مستحضرات المبيدات وضع الطرق والاختبارات المشتركة

Analysis of pesticide formulations establishment of methods and collaborative testing.

* مواصفات الفاو .FAO specifications
* الحاجة للدراسات المشتركة Needs for collaborative studies
* الحاجة للتناسق أو التوافق The need for harmonization
* حدود التقدير Limit of detection
* الحساسية Sensitivity
* الصلاحية (التكرارية فى اعطاء نفس النتائج) Precision Rerproducibility
* الدقـــة Accuracy
* طرق التحليل وحدود السماح Methods of analysis and tolerancces
* الملوثات والمشاكل البيئية Contaminants and environmental problems



تحليل مستحضرات المبيدات .. وضع الطرق والاختبارات المشتركة

Analysis of pesticide formulations : establishment of methods and collaborative testing

معظم الاصدارات والنشرات عن تحليل المبيدات تتضمن موقف مخلفات المبيدات وطرق تقديرها . من الناحية العملية يتساوى فى الاهمية تقدير المادة الفعالة فى المركب النقى او المستحضر . فى السنوات الاخيرة ثم اضافة ابعاد جديدة للمشكلة من خلال المتطلبات التشريعية مع ضرورة تحديد ان بعض الملوثات الموجودة فى المنتجات المصنعة قد تحدث اخطار مؤثرة على الانسان والبيئة . من الناحية التطبيقية يجب ربط تصنيع وبيع المبيدات من حيث التعرض لنظام التاكد من المواصفات والجودة من خلال تقدير المادة الفعالة لأن اى تغير فى محتواها لابد وان يؤثر على اقتصاديات الانتاج واداء المستحضر .

الاعتبار الأول يتمثل فى تحديد نسبة المادة الفعالة Active ingredient content لأن الكفاءة والفعل البيولوجى وكذا معدلات الاستخدام تتوقف على هذه النسبة . تتضمن المواصفات specifications بالاضافة الى محتوى المستحضر من المادة الفعالة .A.I تعريف وتحديد محتوى المبيد من الشوائب اذا كانت ستتداخل مع المادة الفعالة أو ستحدث تأثيرات ضارة على النباتات كما فى مادة البارا – نيتروفينول فى الباراثيون أو اذا كانت ستحدث تآكل فى العبوات أو آلات التطبيق أو تزيد من الانهيار الكيميائى كما فى الدابوكسينات الكلورينية أو النيتروسامينات . لابد ان تحدد المواصفات نوعية وكمية المادة الفعالة وتحدد حدود نسبة ونوعية الشوائب الغير مرغوبة .

توضع المواصفات بما يخدم المشترى وتفيد فى مقارنة القطفات الخاصة بالمبيد فى التصنيع وتحدد خطوات التحليل للمادة الفعالة والشوائب وتتضمن طرق التعريض والكشف عن المادة الفعالة وتحدد معايير كيميائية وطبيعية واجبة الاجراء كاختبارات اضافية للتأكد من ملاءمة وصلاحية المستحضرات . كما يجب ان تؤكد المواصفات على صلاحية المركب للاستخدام الموصى به على الهدف المحدد من الناحيتين الكيميائية والطبيعية . على الصانع ان يؤكد ان مركبه يفى بالمتطلبات التى يحتاجها المنتفع والمستخدم النهائى ومن ثم يقدم وينشر المواصفات ولكن فى العديد من الحالات تقوم الهيئات المحلية والدولية باصدار المواصفات خاصة مع المركبات التى انتهت فترة الاحتكار الخاصة بها patents .

* **المواصفات قدد تتضمن المبيدات الفعالة والمستحضرات**

مواصفات منظمة العذاء والزراعة	FAO specifications
(أ) المصدر (ب) تفاصيل الطرق التى يرجع اليها (حـ) مجالات الاستخدام	
(د) معلومات عن طريقة التحليل (هـ) الدراسات المعملية لوضع المواصفات	
(و) الدراسات المعملية المشتركة (ز) اى معلومات ضرورية اخرى	

لا يمكن ان تكون المواصفات فعالة بدون وجود طريقة تحليل مناسبة وهذه تشمل كذلك الاختبارات الطبيعية للتأكد من ملاءمة المستحضر بنفس اهمية وكفاءة التحليل الكيميائى . الاتفاق على هذه الجزئية والحاجة دعا الى ضرورة التعاون الدولى وتنسيق الجهود بين المشتغلين بتصنيع وتداول والاتجار فى المبيدات . وفى هذا المقام فان الهيئة الدولية للتحليل المشترك للمبيدات

Collaborative international pesticides analytical council (CIPAC)

ورابطة كيمائى التحليل الرسمية Association of official analytical chemists (AOAC) تقود العمل والخطوات التحضيرية للطرق المشتركة .

مواصفات الفاو FAO specifications :

بعد سلسلة من الاجتماعات التى بدأت منذ ١٩٦٥ ثم نشر مجمع عن مواصفات مركبات وقاية النباتات فى عام ١٩٧١ (مرجع - ١) . كان تطور المبيدات من قبل الفاو تتمشى فى نفس الاتجاه الذى وضع قبلا بواسطة منظمة الصحة العالمية WHO والذى نشر تحت عنوان « مواصفات المبيدات المستخدمة فى مجال الصحة العامة عام ١٩٦٧ Specifications for pesticides used in public health . لقد تأكد ان هناك حاجة لاصدار مستقل عن المواصفات بواسطة الفاو FAO لأن المبيدات التى تستخدم فى مكافحة نواقل الامراض التى تضر بصحة الانسان لا تكون مناسبة لوقاية النباتات .

تم اعداد المواصفات بواسطة مجموعة عمل تتكون من الباحثين الرسميين الحكوميين ويمثلهم فنيين ويساعدهم خبراء من هيئة الصحة العالمية WHO وممثلين عن الهيئات الدولية المعنية بالمبيدات كما يجب استشارة علماء الصناعة أو يمكن دعوتهم للتشاور وابداء النصح فى بعض الامور الخاصة . يتم اعداده سواء المواصفات وتوزع للدراسة والتعليق على مجموعة العمل . توضح البيانات فى الجدول (١) نو ع المعلومات التى توزع كمسودة للمواصفات واذا وافق الجميع على ملاءمتها توزع للتعليق على رجال الصناعة والوكالات الحكومية المعنية وبعد الموافقة عليها يعاد توزيعها وتعرض للتوصية بواسطة مجموعة العمل وقد تكون التوصية على الاشكال التالية :

توصية مؤقتة أو غير تجريبية tentative .. تعتمد على وتتطلب الحد الأدنى من المتطلبات وطريقة التحليل التى وضعها صانع المبيد ولا تشتمل على دراسات مشتركة collaborative .

توصية مؤقتة شرطية provisional .. تتطلب او تبنى على توفير طريقة تحليل مشتركة أو مواصفات كاملة للفاو اى انها تتطلب استيفاء جميع المتطلبات الضرورية وطريقة تحليل السيباك .

يتم نشر هذه التوصيات تباعا . تقوم مجموعة العمل بمناقشة المركبات التى ما زالت تحت الاحتكار patented products مباشرة مع الصانع ومع اى خبير ترى المجموعة التشاور والاستفادة من خبراته . فى حالة السلع التى انتهت فترة الاحتكار يكون من الضرورى اجراء تشاور على المستوى الدولى للتأكد من ان جميع الجهات المعنية ابدت الرأى ، يتم التوافق بين الصناعة العالمية ومجموعة العمل من خلال هيئة الجيفاب والخبراء والهيئات الغير مشتركة فى الجيفاب يمكنها حضور اللقاءات وابداء الرأى والتعليقات . لقد وافقت مجموعة العمل على طرق التحليل للتجارب المشتركة وضرورة اتباعها وكذلك وضعت السيباك وجمعية AOAC طرقا فى المتناول والتى يمكن عمل تحويرات فيها بعد الاختبارات المشتركة . السيباك هيئة دولية التكوين ولكن العديد من التقارير تصدر من اللجنة الاستشارية لتحليل المبيدات Pesticides analytical advisory committee (PAC) التابعة لوزارة الزراعة فى المملكة المتحدة والتى تضطلع بتجهيز طرق تحليل مجموعة السيباك للمبيدات النقية والمستحضرات النهائية وبعدها تجهز المواصفات المطلوبة .

بدأت مجهودات المملكة المتحدة فى الرقابة على المبيدات من خلال وضع المواصفات وطرق التحليل بعد الحرب العالمية الأولى وبعد ذلك استمرت مجهودات وزارة الزراعة ورابطة صناع المبيدات الانجليزية لوضع المواصفات وطرق التحليل ولكن ظهور المبيدات الجديدة جعل من هذه المهمة مؤمنة ولتفادى تناثر الجهود هنا وهناك اقترح R. de B Ashworth (١٩٥٧) ضرورة تعيين لجنة قومية فى كل دولة تكون مسئولة عن طرق تحليل المواد الفعالة والمستحضرات المجهزة من المبيدات . يجب اجراء اختبارات مشتركة لطرق التحليل مع التنسيق مع اللجنة الدولية والهيئة الدولية المشتركة لطرق تحليل المبيدات (CIPAC) .

اللجنة القومية البريطانية PAC لها شركاء فى الدول الاوربية فى الاجتماع الأول للسيباك عام ١٩٥٧ حضر بالاضافة الى العلماء الانجليز ممثلين من ايرلندا والمانيا الاتحادية وفرنسا وبعد ذلك زاد ممثلى القارة الاوربية تباعا وتم التوصل لاتفاق مع الفاو FAO على ان تنشر طرق التحليل فى كتاب وقاية النبات الذى تصدره الفاو FAO plant protection bulletin . وفى نفس الوقت توصل ممثلوا الصحة العالمية WHO والسيباك CIPAC للتعاون فى تجهيز هذه الطرق . بعد ذلك زاد تمثيل الدول والهيئات المختلفة فى الاجتماعات ووصل عدد الدول المشاركة الآن ٢١ دولة بالاضافة الى اعضاء معاونون من الرابطة الرسمية لكيميائى التحليل Official assocaition of analytical chemists (AOAC) ومنظمة الغذاء والزراعة التابعة للامم المتحدة (FAO) وهيئة الصحة العالمية (WHO) وستة دول اخرى . كما يحضر الاجتماعات مراقبين من الدول الاخرى

والسوق الاوربية المشتركة . هناك تعاون وثيق مع الجيفاب والمعامل الرسمية والصناعية المعنية بطرق تحليل المبيدات .

* **تتمثل اهداف السيباك فى المجالات الآتية :**

(أ) تعزيز الاتفاق الدولى عن Promote international agreement :

١ – طرق تحليل المبيدات وغيرها من المواد التى يقوم المركز بتقديرها من وقت لآخر .

٢ – الطرق الخاصة بتقدير المواصفات الطبيعية والكيميائية للمبيدات فى الصور النقية والمستحضرات التجارية .

٣ – الطرق الخاصة بالعلاقة بين الفعل البيولوجى والصفات الطبيعية والكيميائية للمبيدات .

(ب) رعاية وتنظيم الطرق الخاصة بالتحليل المشترك الداخلى بين المعامل المهتمة بالموضوع Inter-laboratory collaborative analysis .

من الأهداف الاضافية الدعوة الى واقامة الندوات واللقاءات عن طرق التحليل ونشر الطرق التى ووفق عليها ونشر كتاب المؤتمر بالتعاون مع الهيئات الأخرى (٣) . بالرغم من الاختلاف بين الولايات المتحدة الامريكية واوربا من حيث البداية والتطور كان لابد من تعاون وثيق بين هيئة AOAC والسيباك CIPAC . لقد شرع التعاون فى اللقاء السابع للسيباك عام ١٩٦٣ وفى اجتماع ١٩٧١ بواشنطن ثم الاتفاق على ضرورة تجنب ازدواجية المجهودات ولذلك تقرر أن يعمل السيباك والـ AOACمعا وتم تجهيز دليل العمل المشترك Guidelines for collaboration . لقد ادى مكتب الاتصال الى بدأ العمل المشترك لتطوير الطرق حيث تعاون AOAC و CIPAC ، WHO بما يسمح لأى منهم بتعديل وتطوير طريقة الآخر . مما دعا الى ظهور طريقة CIPAC - AOAC أو AOAC - CIPAC لتوضيح المؤسسة المسئولة عن تطوير الطريقة . لقد تم تصنيف الطرق التى وضعتها السيباك منفردة على انها طرق مؤمنة تستند الى الوثائق Provisional .

الحاجة للدراسات المشتركة Needs for collaborative study :

تم تعريف الرابطة الرسمية لكيميائى التحليل AOAC على انها الرابطة التى تقابل وتلبى الاحتياجات الاولية لجهات التشريع الحكومية والوكالات البحثية لطرق التحليل .. والآن تحاول مد نشاطها ودورها الهام الى النطاق الدولى . من خلال المجهودات اصبحت الدراسات المشتركة من اكثر الوسائل اهمية لضمان صلاحية طرق التحليل ولتقدير مدى الثقة فى الطريقة فى الدراسات المشتركة تزود بعض المعامل (متفق على العدد) بمجموعات متماثلة من العينات التى تتبع فى حدود الطريقة المختارة وهدف هذه الدراسة التأكد من الدقة والمصداقية والحساسية ومدى وحدود التقدير وغيرها من الصفات الخاصة بالطريقة .

هذا العمل يتم بالتنسيق وتوجيهات محكمى الرابطة Associate refree وهم من خيرة العلماء والمتخصصين وهم يعملون كذلك بناء على توجيهات والاشراف الادارى للمحكمين العموم . الحد أو اقل عدد من العينات هو ستة عينات ترسل لخمسة معامل على الاقل للتحليل تبعا للطريقة المختارة . التعريف المتفق عليه للدراسة المشتركة من قبل هيئتى CIPAC - AOAC هو « دراسة خاصة بالتحليل يشترك فيها عدد من المعامل تحلل نفس العينة أو العينات بنفس الطريقة أو الطرق » .

An analytical study involving a number of laboratories analyzing the same sample (s) by the same method (s) for the purpose of validatating the performance of the method (s).

الحاجة للتناسق أو التوافق The need for harmonization :

تعنى هذه المقالة بالدور الأولى الذى تضطلع به السيباك والـ AOAC فى تجهيز طرق تحليل مستحضرات المبيدات . التعضيد القانونى والشرعى للمواد القياسية يجعل من الاهمية استخدام الخطوات المناسبة لتقدير المبيدات . لتفادى تكرار نفس المجهود ولتسهيل وتعضيد التجارة الدولية كان من الضرورى ان يكون قبول وصلاحية الطرق على المستوى والنشاط الدولى ويكون دور السيباك دوليا متناسقا مع ما تقوم به اللجان والهيئات القومية . وكلما ازداد دور النشاط الدولى ودور المؤسسات الدولية يكون من الضرورى والمناسب التركيز على انشطتها وعلاقتها بالكيمياء التحليلية . بالرغم من ان هناك اساس عام لعمليات وخطوات التحليل فقد اتفق على قيام الهيئات الدولية لتطوير الطرق القياسية على اساس الدراسات المشتركة .

فى اللقاء الخاص بتناسق دراسات التحليل المشترك الذى عقد عام ١٩٨١ فى هلسنكى بفنلندا تم دعوة الدكتور H. Egan لمناقشة مختلف الفلسفات التى طرحت لوضع الطرق القياسية للتحليل وتوضيح الحاجة لفحص المعايير المقترحة والموضوعة للحكم على صلاحية الطرق مع الاخد فى الاعتبار الموقف الدولى فى هذا الشأن . تم استعراض المشاكل التى حدثت فى غياب التنسيق بين الجهات المشتركة فى الدراسة . والجهات التى لم تشارك فى الدراسة ليست فى حاجة الى تحديد ما اذا كانت الطرق تناسبها أم لا . ولا خلاف على بعض المعايير الخاصة بالتحليل مثل الدقة accuracy والصلاحية precision والتكرارية repeatability واعطاء نفس النتائج مع التكرار reproducibility وحدود التقدير وكذا فهم جميع المعايير التى تقبل على اساسها الطريقة . لقد اقترحت التعريفات التالية فى طرق التحليل المناسبة :

+ حدود التقدير limit of detection .. أصغر أو أقل تركيز (أو كمية) من المواد التى يمكن تحديدها بصورة مؤكدة عند اجراء خطوات التحليل الكامل .

+ الصلاحية (التكرارية فى اعطاء نفس النتائج) precision (reproducibility) ... الاتفاق فى النتائج المتحصل عليها من تنفيذ خطوات التحليل مرات عديدة تحت نفس الظروف فى المعامل المختلفة .

+ الدقة accuracy .. الإتفاق بين القيمة الحقيقية للتقدير ومتوسط قراءات التحليل التى يتحصل عليها من اجراء خطوات التجريب مرات عديدة وهذه يجب ان تتضمن اكبر عدد من التحاليل والنتائج ما أمكن .

من المشاكل الاخرى ما يتعلق باسلوب وكيفية وصف طرق التحليل description الدراسات المشتركة التى تستخدم بواسطة AOAC لتعضيد طرق التحليل تبنى على الطرق المجهزة فى نماذج قياسية التى فيها يتم الوصف الدقيق للأجهزة والجواهر الكشافة وطرق وخطوات التحليل . فى السنوات الاخيرة تم تزويد المعامل بانواع مختلفة من الاجهزة المتقدمة المعقدة والباهظة التكاليف حتى تصبح قادرة ومتمشية مع متطلبات التحليل والمهام المطلوبة منها . هذا الوضع جعل من الصعب اجراء دراسات مشتركة بناء على وصف دقيق ومحدد للأجهزة والأدوات مثل اعمدة الكروماتوجرافى . وحديثا ساد الاتجاه من قيم AOAC لكتابة طرق التحليل باسلوب عام واجراء دراسات مشتركة لهذه الطرق توضح تفصيلات الطرق بناء على معايير الاداء وليست على الاجهزة المتخصصة والجواهر الكشافة . لذلك على القائم بالتحليل ان يختار اى جهاز أو أى ظروف تقدير طالما تحصل على اداء جيد ومقبول . طالما كانت هناك العديد من الطرق مكتوبة بهذا الشكل العام وتعرضت لاجراء العديد من التحويرات من قبل القائمون بالتحليل بصورة تختلف من معمل لآخر اصبحت هناك حاجة مستمرة للتأكد من صلاحية الدراسات المشتركة فى نطاق الوصف العام للطرق .

طرق التحليل وحدود السماح Methods of analysis and tolerances :

من الشائع استخدام الطرق الغير متخصصة Non-specific لتقدير المواد الفعالة من المبيدات . تستخدم طريقة الكشف عن الكلورين الكلى أو محتويات الحموضة لتقدير احماض الفينوكس الكانويك . لقد تم احلال هذه الطرق بغيرها من الطرق المتخصصة مثل الكروماتوجرافى الغازى ولكن فى غياب هذه الطرق المتخصصة كما فى مبيدات المانيب والزينيب وغيرها من مشتقات الايثلين داى ثيوكربامات يمكن إستخدام الطرق الغير مباشرة .

يمكن تحديد اهمية الطرق المتخصصة بناء على الاعتبارات الخاصة بالنشاط الحيوى . تحليل الملاثيون بطريقة الفوسفور الكلى او الطريقة اللونية قد تعطى ارقام عالية كثيرا وبشكل معنوى مقارنة بطريقة الكروماتوجرافى الغازى . هذا مهم من ناحية النشاط البيولوجى ويحدد اهمية وضرورة تحديد طريقة التحليل اذا تم توصيف محتوى المادة الفعالة من قبل المشترى .

هناك حدود مسموح بها تختلف فيها النتائج الفعلية للتحليل اى محتوى المادة الفعالة المقدرة

عن القيمة الاصلية المفروض وجودها فى العينة محل التحليل وهذا بسبب تعرض طرق التحليل لأخطاء فى التنفيذ واختلاف فى ظـــروف التصنيع بما يؤدى الى عدم تجانس المنتج النهائى .

الحدود المسموح بها يطلق عليها tolerance وهى تمثل الانحراف عن القيمة المعلنة وهى تتأثر بالعوامل التالية :

أ – تكرارية وصلاحية الطريقة .

ب – خطأ العينات فى المنتج .

ج – احتياجات المشترى .

جدول (٢) : آثار الملوثات فى المبيدات النقية والمستحضرات .

الديوكسينات الكلورينية والبنزوفيران

الايزوملاثيون

النيتروسامينات

الازوبنزين الكلورينية والأزوكسى بنزين

الايثلين ثيويوريا

الموثات والمشاكل البيئية Contaminants and environmental problems :

يجب ان يؤخذ فى الاعتبار موقف مخلفات المبيدات وتأثيراتها البيئية ليس فقط ما يتعلق بالمواد الفعالة ولكن المواد الاخرى الموجودة معها والتى تعتبر شوائب . ان تعريف مخلفات المبيد كما وضعته هيئة إتحاد كيمياء المبيدات IUPAC هو « اى مادة او مخلوط من مواد فى أو على أى وسط من جراء استخدام المبيد وهو يشمل اية مشتقات مثل نواتج الانهيار والتحول ونواتج التمثيل ونواتج التفاعل والشوائب . ان اهمية وخطورة هذه المخلفات تتوقف على السمية الاساسية للمادة ودرجة التعرض . بناء على هذا التعريف فان المواد المرتبطة بالمبيد فى المستحضر يجب ان تؤخذ فى الاعتبار على انها مخلفات للمبيد pesticide residues . من الأهمية توفر معلومات لتحديد وحسم ما اذا كان استخدام المبيد سيؤدى الى حدوث مخلفات فى المحصول أو السلعة ليس فقط على اساس المادة الفعالة ونواتج التحول ايضا وانما تشـــمل النواتج الثانويـــة عند التصنيـــع والملوثات الاخرى .

فى السنوات الاخيرة برز عدد كبير من هذه المشاكل كما هو واضح فى الجدول (٢) . متطلبات تسجيل المبيدات كما اعدتها وكالة حماية البيئة الامريكية EPA تحدد هذه الموضوعات التى تدخل فى نطاق المشاكل التشريعية . من المهم معرفة تركيب المبيدات المستخدمة على ان

يتضمن ذلك الملوثات الرئيسية المرتبطة بها لتقدير دورها وتأثيراتها على البيئة ولكن بالرغم من ان التأثير الكمى للملوثات يتناقص فان التأثيرات التوكسيكولوجية المقابلة تزيد وتعتبر مطلبا اساسيا اذا كان التحليل الكمى مطلوبا فى المستويات المنخفضة . تحدد التشريعات فى الوكالة Agency ان جميع الشوائب التى تنتج فى تصنيع المنتجات النهائية اذا زادت كميتها عن ٠,١ ٪ من المركب بالوزن لا بد ان تعرف . بالاضافة الى ذلك فان الوكالة تتطلب تحليل كيميائى كل حالة على حدة اذا كانت بيانات التصنيع وغيرها من كيمياء المركب تقترح وجود مستويات منخفضة من الشوائب ولكنها ذات سمية عالية (المرجع - ١٢) .

لقد تم وضع هذه الاقترابات والتشريعات بسبب ان التقديرات الميكروبية خارج الخلايا In-vitro للتمييز بين كفاءة وفعالية المبيدات من حيث تأثيرها الوراثى السام للمستويات الواطية تعطى نتائج مضللة موجبة أو سالبة . لقد ادى العديد من المشاكل التطبيقية والعملية الى تطوير هذه التوصيات . بعض التأثيرات الضارة والمعاكسة مثل الضرر الغير متوقع على النباتات تعطى مؤشرات على ان بعض المركبات تحتوى على شوائب تصنيع او ملوثات تؤثر على حساسية النباتات المعاملة بها او النباتات المجاورة كما فى حالة مبيدات الحشائش من مجموعة الفينوكس التى تعطى استرات متطايرة عندما يحدث لها استرة مع الكحولات ذات الاوزان الجزيئية المنخفضة .

لقد صاحب ظهور التأثيرات الضارة المعاكسة للملوثات تقدم معنوى فى طرق التحليل وقد يساير هذا التزامن فى خط متوازى كما فى الديوكسينات الكلورينية والنيتروسامينات . الديوكسينات الكلورينية عبارة عن احلال كلورينى بمركب dibenzo - o - dioxins ومن اكثر مشابهاته سمية المشابه 2, 3, 7, 8 - tetrachlorodibenzo - p - dioxin (TCDD) لقد وجدت الديوكسينات الكلورينية والداى بنزوفيوران الكلورينية ومشابهاتها فى العديد من الفينولات الكلورينية بدرجة تتوقف على المصدر وظروف التخليق . العديد من المراجع تضطلع الآن بمشاكل الديوكسينات والمستويات المنخفضة الواجبة التقدير والكشف عنها فى المبيدات المرتبطة بهذه المجموعة البنتاكلوروفينول (PCP) الذى يستخدم فى حفظ الاخشاب وكذلك مركب 2, 4, 5 - T والاول PCP يلقى اهتمام البحاث لأنه مصدر العديد من الملوثات السامة . لقد اجريت دراسات طويلة للتأكد من دور البنتاكلورفينول عند معاملة الاخشاب وموت الدجاج باعداد كبيرة عندما عزل المركب الهالوجينى عالى السمية 1, 2 , 3, 6 , 7, 8 - hexachloro di-benzo - p dioxin (HCDD) - من الدهون المسممة . قد يحدث تكوين لمشتق TCDD اثناء التحلل لقلوى لرابع كلوريدا لبنزين الذى يتحول الى تراى كلوروفينول على درجة حرارة المعمل تحت ضغط . حدوث الوفاة فى الثدييات من جراء التعرض لمركب 2, 4, 5 - T لاقى الاهتمام وقد تأكد ان التسمم يرجع الى وجود ملوث TCDD مما دعا الى التشريع بالا يزيد محتوى الـ TCDD فى مركب 2, 4, 5 - T عن ٠,١ جزء فى المليون . وفى عام ١٩٨٠ نجحت الصناعة فى تقليل كمية هذا الملوث الى ٠,٠١ جزء فى المليون .

المبيد الحشرى الملاثيون 0.0 - diethylophosphorodithoate للداى ايثيل مركابتوسكسينات يستخدم على نطاق واسع فى جميع انحاء العالم خاصة لمكافحة ناقلات الامراض مثل البعوض . لقد حل هذه المركب محل الـ د د ت وسادس كلوريد البنزين بعد ما زادت مقاومة الحشرة لهذه المركبات ... لقد ساد اعتقاد من الامان العالى لهذا المركب ولكن فى عام ١٩٧٦ حدثت حالات رهيبة من التسمم على العمال المشتغلين بمكافحة بعوض الملاريا وصلت الى ٧٥٠٠ حالة فى باكستان وكانت الاعراض متماثلة تماما لأعراض المبيدات الفوسفورية العضوية وقد لوحظت مع ٣ مستحضرات . يؤدى التطبيق الردئ وعدم اتباع التعليمات الى ملامسة المبيد للجلد وامتصاص المبيد . ولقد تم دراسة مواصفات مستحضرات الملاثيون وثباتها خلال التخزين تحت الظروف الإستوائية ، ولقد اوضحت نتائج التحليل ان هذه المستحضرات بها نسبة عالية جدا من الأيزوملاثيون بمقدار اكثر من ٢ ٪ مما يحدث سمية عالية للثدييات .

اثبتت الدراسات العلاقة الوثيقة بين نسبة الايزوملاثيون وعملية تكوين المشابهات والسمية على الثدييات وتم استنتاج ان زيادة السمية ترجع الى المواد الخاملة الموجودة فى المستحضرات . حدث العكس مع المبيد الفوسفورى الفينيتروثيون حيث انه بالرغم من تكوين مشابه S - methy ismor اثناء التخزين الا ان السمية لم تزداد . يمكن الكشف عن الايزوملاثيون باستخدام اجهزة الكروماتوجرافى الغازى ولقد اوصت منظمة الصحة العالمية WHO ان نسبة هذا المشابه فى مستحضر ٥٠٪ مسحوق يجب الا يتعدى ٠,٩٪ بعد ٦ أيام من التعريض على درجة حرارة ٥٥ °م .

العديد من مركبات النيتروسيامينات nitrosamines معروف عنها تأثيرها الطفرى أو السرطانات على حيوانات التجارب لذلك كان من الضرورى تحديد مصادر هذه الكيميائيات فى البيئة . وجود النتيروزامينات فى مستحضرات المبيدات تنتج عادة من النواتج الثانوية لخطوة النترزة أو التفاعل بين املاح الامين لبعض المبيدات والنتريت المستخدم كمثبط للتآكل فى المستحضر .

المبيدات الفطرية من مجموعة Ethylene bisdithiocarbamate (مانكوزيب ، مانيب ، نابام ، زينيب ... الخ) قد تتكسر فى المحاليل المائية وتنتج الايثيلين يوريا وغيرها من نواتج الانهيار . يسبب هذا المركب (ETU) ورم فى الغدة الدرقية فى حيوانات التجارب كما يسبب تشوهات فى العمود الفقرى teratogenic وتأثير طفرى mutagenic . اظهرت نتائج التحليل لمستحضرات المبيدات الفطرية ان مركب ETU يوجد كشوائب كما قد ينتج مع بعض المستحضرات اثناء التخزين والتداول .

لذلك نقول ان الملوثات الموجودة فى المواد الفعالة أو فى المستحضرات النهائية قد تحدث من جراء التفاعلات مع مكونات المستحضرات او من خلال التغير الذى تحدثه ظروف التخزين وهذا يستدعى وضع طرق خاصة للتحليل للكشف عن هذه المواد .

Literature cited المراجع

1 . FAO working party of experts on the official control of pesticides : Section B (specifications), FAO agricultural development paper, No. 93, "Manual on the use of FAO specifications for plant protection products", Food and agricultural organization of the United nations, Rome, 1971.

2 . "Specifications for pesticides used in public health", World Health Organization, Geneva, 1967.

3 . Ashworth, R. deb., Henriet, J., Lovett, J. F., CIPAC Handbook Vol. I, Raw G.R., Ed., Collaborative International Pesticides Analytical Council, Ltd., Harpenden, Hertfordshire, England, 1970.

4 . Lovett, J. F. in "collaborative Interlaboratory Studies in Chemical Analysis" (IUPAC Symposium Series), Egan H. and West T. S., Eds., Pergamon Press, Oxford, d1082, p. 139.

5 . "Guidelines for Collaboration between the Association of Official Analytical Chemists (AOAC) and the Collaborative International Pesticide Analytical Council (CIPAC)", J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1974, 57, 447 - 9.

6 . Association of Official Analytical Chemists, Handbook for AOAC Members d(5th Edition), Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, 1982, p. 28.

7 . Analytical Chemistry 1978, 50, 337A - 340A.

8 . Egan. H. in "Collaborative Interlaboratory Studies in Chemical Analysis" (IUPAC Symposium Series), Egan, H., and Wlest, T.S., Eds. Pergamon press, Oxford, 1982, P. 3.

9 . Kane, P.F., Stridngham, R.W., J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1983, 66, 513.

10. Kane, P. F., "Instrument Specification in Official Methods : A discussion", the referee (A.O.A.C.), 1983, 6, (9) 4.

11. Bates, J.A.R., Pure and Appl. Chem. 1982, 54, 1361.

12. U.S. Environmental Protection Agency Pesticides Registration; Proposed Data Requirements, 24, Nov. 1982, 40 CFR Part 158, Federal Register 1982, 41 (227) 53182.

13. Metcalfe, L.D., J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1972, 55, 542.

14. Woolson, E.A., Thomas, R.F., ensor, P.D.J., J. Agric. Food Chem. 1972, 20, 351.

15. Courtney, K.D., Gaylor, D.W., Hogan, M.D., Falk, J. J., Bates, R.R., Mitchell, I., Science 1070, 163, 864.

16. Baker, E.L., Jr., Warren, M., Zack, M., Dobbin, R.D., Miles, J. W., Mill-er, S., Teeters, W.R., The lancet 1978, 31 - 34.

17. miles, J. W., Mount, D.L., Starger, M.A., Teeters, W.R., J. Agric. Food Chem. 1979, 27, 421.

18. Kearney, P. C., Pure and Appl., 1980, 52, 499 - 526.

19. Bunce, N.J., Corke, C.T., Merrick, R.L., Bright, J. H., Chemosphere 1979, 8, 283.

20. Sundström, G., Jansson, B., Renberg, L., Chemosphere, 1978, 7, 973.

21. Vettorazzi, G., Residue Reviews, 1977, 66, 137.

22. bontoyan, W. R., Lookerd, J. B., Kaikser, T. E., giang, P., Olive, M.B., J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1972, 55, 923.

23. Bontoyanm W. R., Looker, J. B., J. Agric. Food Chem., 1973, 21, 338.

الفصـــل الســادس

– التطويرات الحديثة فى الطرق الالية لتجهيز العينات الخاصة بتحليل المبيدات

- مقدمــــة
- الاستخلاص بالمذبيات
- التطاير الوميضى فى التحاليل المستمرة الانسياب
- استخدام الكروماتوجرافى .
- الاستنتاجات .



التطويرات الحديثة فى الطرق الالية لتجهيز العينات الخاصة بتحليل المبيدات

Recent developments in automatic sample preparation techniques

مقدمـــة Introduction :

الالية فى الكيمياء التحليلية اتجاها يعانى من نقص التعريفات المقبولة . ويقوم صناع الاجهزة بوصف منتجاتهم على انها كاملة الالية اذا كان الجهاز يقوم بعمل واحد فقط بصورة اتوماتيكية ، وعلى سبيل المثال وسائل او اجهزة تداول البيانات . ولقد فكر علماء الاتحاد الدولى للكيمياء البحتة والتطبيقية من خلال اللجنة الخاصة بالتسميات والمصطلحات المتداولة فى التحليل تقديم تعريفات صارمة ووضع مسميات دولية شائعة . ولقد قامت اللجنة بالتفرقة والتمييز بين الميكنة والآلية الذاتية Mechanization and automation حيث إتفق على ان الاصطلاح الاخير يخص الموضوعات الموجود لها اشرطة ترجيع المعلومات . ويستخدم الاصطلاح Automation ليشمل التطويرات فى طرق الكيمياء التطبيقية .

عندما يراد الانتقال من الطريقة اليدوية الى الآلية يصبح من الأهمية تعريف المواصفات المطلوبة لاحتياجات التحليل . والطريق البسيط هو ميكنة الخطوات اليدوية مباشرة . وليس هذا افضل الاساليب لأن التكنولوجيات الجديدة واستخدام النظم الآلية يسمح بوجود البدائل ، ومن السهل تعديل الطرق الآلية . ولو ان تعريف مواصفات التحليل ليس سهلا نظرا لضرورة اعتبار متطلبات القائم بالتحليل وطلبات طالب التحليل وحاجة المستهلك لنتائج التحليل .

وستتناول فى هذا الجزء الخبرات والتحويرات التى ادخلت على طرق التحليل الذاتية . وقد استتبع ذلك تكثيف استخدام طرق الانسياب المستمرة Continuous flow techniques وهى تتطلب خبرات كبيرة ومعرفة فى الكيمياء الخاصة بطرق التحليل واخذ العينات وكذلك درست حدود هذه التكنولوجيات كما سيرد ذكره فى الآتى :

الاستخلاص بالمذيبات Liquid /liquid solvent extraction :

من اكثر طرق الاستخلاص شيوعا فى المراجع العلمية ما يعتمد على استخدام المذيبات بينما لا يوجد او يوجد القليل من المراجع عن النظم الآلية الذاتية . ولكى يحصل القائم بالتحليل على نتائج موثوق بها من استخدام النظام الآلى يجب ان تتوفر لديه معلومات كافية عن الذوبان النسبى للمركبات مجال الدراسة فى الأوساط المختلفة . وفى الطرق اليدوية يتحصل على هذه المعلومات من جراء الاستخلاص المتعدد واعادة الغسيل التى يقوم بها المختص ، بينما فى الطرق الآلية تدخل هذه المعايير فى مواصفات الجهاز نفسه (مدخلات) .

والاستخلاص بالمذيبات يمكن ان يكون آليا ضمن طريقة التحليل بالانسياب المستمر . ويجدر التنويه الى ان طرق إستخدام اجهزة التحليل الذاتية التقليدية وكذلك طرق الانسياب والحقن Flow injection تشتمل فى احد خطواتها على الإستخلاص بالمذيب . وفى جميع هذه الطرق توجد مضخة تدفع السائل فى ملف الخلط الذى غالبا ما يكون مملوء بكريات زجاجية وتكون الاوساط مفصولة فى جهاز فصل بسيط يسمح بحدوث طبقات بين الاوساط المائية والعضوية . ويمكن اعادة ضخ احد أو كلا وسطى المذيبين فى وصلات الجهاز للتفاعلات الاضافية أو للقياس . ولو أن النسبة بين العينة ومادة الاستخلاص Sample / extraction ratio تختلف فى حدود الطرق المستخدمة الا ان التركيـــز الاقصى اللازم للعمليات الجيدة يكون ٣ : ١ (مذيب / عينة).

ومن الاهمية بمكان التصميم الصحيح لنظام فصل الأوساط وضبط معدل ازالة الأوساط من هذا الجهـاز (النظام) . وفى حالة التقـديرات المائيـة ، اذا دخلت بعض الفقـاعـات فى المذيب العضوى فى مجرى سريان المركب خلال الخلية تعطى قراءات مضللة . وتحدد طبيعة انابيب المضخة كفاءة العملية ، وحاليا حدثت تطويرات كبيرة فى صناعة البلاستيك واستخدام طرق الازاحة امكن من خلالها التغلب على بعض المشاكل . ويمكن عن طريق التبخير التقنى حتى الجفاف زيادة كفاءة عامل التركيز للمستويات المقبولة . وفى هذا المجال تستخلص العينات فى مذيب متطاير يوضع فى حاجز خامل متحرك يمر فوقه تيار هواء او تفريغ . وبعد ان يتبخر المذيب تعاد اذابة العينة فى مذيب اخر عندما يتحول الحاجز فى قسم جديد من الوصلات فى الجهاز . وهذه الطريقة تكون مناسبة فى حالة ضرورة تغيير المذيب لضمان التوافق الخلطى مع مرحلة القياس كما فى الكروماتوجرافى السائل . ولقد تم وصف الإستخلاص بالمذيب فى طريقة الانسياب والحقن بواسطة البحاث Karlberg and Thelander عام ١٩٧٨ .

توجد طرق مختلفة للتحكم فى مرحلة فصل الأوساط فى نظم التحليل المتميزة والمنفصلة ، ولقد تم وصف النظم الساكنة static والحركية dynamic . وقام valis عام ١٩٦٧ بتطوير النظام الحركى باستخدام قوة الطرد المركزى ، حيث استخدم وعاء له شكل الفنجان محمول على ملف ذو حافة مثقبة متصلة تشبه الفنجان . وعند الاستخدام يوضع الجهاز داخل وعاء الجمع واذا كانت الشفة مصنوعة من مادة محبة للماء مثل sintered glass فان الماء سوف يمر فى وعاء الجمع عند سرعات دوران واطية تاركا المذيب العضوى فى الكأس . وزيادة سرعة الدوران بعد ذلك تطرد الوسط العضوى . ووجود السطح البينى الكاره للماء مثل الـ Sintered PTFE يعمل على طرد الوسط العضوى . والمشكلة الاساسية الموجودة فى هذه النظم تتمثل فى ان السطح البينى يكون غير ثابت وهذا يتطلب احلال مستمر او اعادة التجديد ، وهذا القصور تسلب العديد من مميزات التقدير الآلى . ولقد لاقى استخدام الطرد المركزى لمساعدة عملية الفصل اهتماما ومجالا كبيرا للتطبيق من قبل وكالة العلوم الطبية والطاقة الذرية Medical science/ Automic energy فى النظام الآلى الذى وضعه Anderson عام ١٩٧٠ ، وكذلك استخدم حديثا بواسطة Arndt وآخرون عام ١٩٧٨ فى تصميم نظام الاستخلاص الصلب / السائل Solid - Liqid .

حديثا تم تصميم جهاز فصل باستخدام اسلوب حديث بواسطة البحاث & Stockwell Williams عام ١٩٨٠ . ومن الاساسيات ان الفصل يتم عن طريق امتصاص الوسطين فى قرص من سبيكة مثقبة مصنوعة من النيكل كروم محمولة على ذراع متحركة آليا . ويؤدى تنظيم السرعة الزاوية وقوة الطرد المركزى على القطرات خلال القرص المثقب الى فصل احد الوسطين عن الآخر . وعن طريق ضبط سرعة دوران القرص المثقب مع الحركة الالكترونية الرأسية يمكن للقطرات المفصولة ان تترك القرص وتصطاد بضرب جدر الاوعية الزجاجية . وتزود الاجزاء القاعدية من النظام بصمامات تمكن من سحب وازالة القطرات المفصولة وادخالها فى عمليات اخرى تبعا للتصميم . وباستخدام جهد بين القرص الدائر والالكترود الموجود على بعد ٥ ملليمتر من حافة موتور الدوران يحدث تيار بمجرد زيادة سرعة الدوران بقدر كافي يوقف دوران القطرات السائلة . وهذه الاشارة تعتبر علامة للموتور للاستمرار فى الدوران على سرعة ثابتة .

والجهاز الموضح فى الشكل (١) يفى بالغرض حيث يصنع جسم وعاء الاستخلاص من زجاج البيركس . ويحدث الانفصال بامتصاص الوسطين فى قرص قطره ٢ سم من سبيكة النيكل كروم (A) والسطح العلوى على شكل قبو . والقرص محمول على نهاية قضيب من الصلب الغير قابل للصدأ (B) يلف بواسطة موتور كهربى . والقرص والقضيب والموتور يمكن ان تتحرك على طول محور الدوران لأى من محطات الحركة الثلاثة . والماكينة تظهر عند محطة القاعدة مع القرص المثقب خلال الوعاء الداخلى (C) وحولها يوجد طوق (D) مكونا الجيب الحلقى الاولى (E) . الطوق نفسه يكون الجدار الداخلى للجيب الثانى (F) والجدار الخارجى يمتد لأعلى لتدعيم الغطاء (G) . ويتم تثبيت الوعاء الداخلى والجيبان بصمامات الصرف ، ويمرر قطعة من سلك البلاتين خلال الغطاء الى الاجزاء الزجاجية على مستوى الجيب الأول .

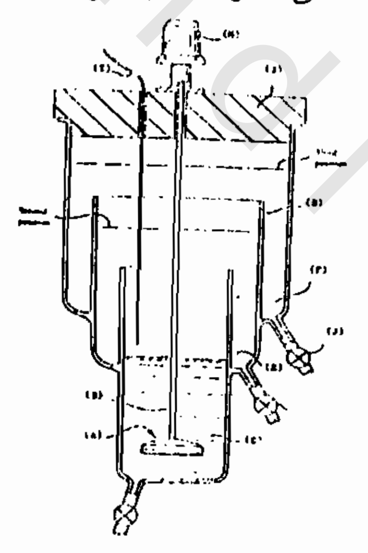


Figure 1. Schematic layout of centrifugal seraration system (11).

شكل (١) : شكل يوضح نظام الفصل بالطرد المركزى

عند التشغيل يضخ مخلوط السوائل المراد فصلها فى الوعاء بما يغطى القرص عند محطة القاع . ويضبط القرص فى وضع يسمح له بالدوران السريع ثم تخلط السوائل جيدا وبتجانس ، ثم يوقف دوران القرص ويرفع بطريقة ميكانيكية كهربائية لوضع اعلى من قمة الطوق . وفى نفس الوقت يبدأ الموتور فى تدوير القرص وتزداد السرعة تدريجيا حتى يتوقف خروج قطرات الوسط الاول وهنا يلاحظ سريان تيار محسوس بين القرص الدائر وسلك البلاتين . ويظل الموتور فى الدوران على سرعة ثابتة لمدة ١٥ ثانية ولمدة كافية لاكتمال خروج السائل الاول من القرص . يرفع القرص للمحطة العلوية وتزاد سرعته حتى يتم ايقاف الوسط المائى . ويظل القرص الدائر فى هذا الوضع لمدة ١٥ ثانية اخرى وبعدها يعاد الى وضعه السفلى . وتكرر العملية بعد ذلك . ويتحصل على المشغل الكهروميكانيكى المستقيم والموتور المستخدم فى دوران القرص من شركة Portescap بانجلترا . ويمكن الحصول على احد الوسطين بصورة عالية النقاوة (١٠٠ ٪) عن طريق ضبط حساسية كاشف القطرات . وفى العادة تكون نقاوة الوسط الثانى ٧٠ – ٧٥ ٪ وقد استخدم الجهاز مع العديد من مخاليط المذيبات مثل الكلوروفورم والماء .

وسبيكة النيكل كروم متوفرة لدى شركة مجموعة Dunlop Aviation تحت الاسم التجارى Retimel وهو مناسب لأن قابليته للوسط العضوى اكبر منه للوسط المائى وهذه تعتبر من احد المميزات . ولتحقيق قابلية متساوية لكل وسط تطلى الاقراص بالذهب لمدة ١٠ دقائق باستخدام تيار قوته ٣٠٠ مللى امبير . ومن الافضل ان تشكل السبيكة بحيث تكون الثقوب على السطح بعد الميكنة . ويزود الجهاز بمزيل للشرارات الكهربية من شركة Pantograph precision ltd, slough .

فى نظم الاستخلاص بالمذيبات بالطرق الغير حركية تستخدم وحدات حساسة للتحكم فى انسياب السوائل من خلال مجموعة من الصمامات . وفى البداية استخدم نظام مكون من زوج من الالكترودات وصمام معين . ولا ينصح باستخدام هذا النظام فى حالة المذيبات القابلة للاشتعال مثل الاثير . وفى هذه الحالات يخفض من خطورة الانفجار اذا حدثت شرارة كهربية بين الإلكترودات . ويمكن استخدام البدائل وهى كاشفات لربط الاوساط الموصلة مع وحدات استشعار للتوصيل الكهربى . ويفضل ان يكون الكاشف خارج الأوساط العضوية / المائية . ومن الناحية العملية تلعب سرعة التقليب دورا هاما حيث ان السرعة العالية جدا تؤدى الى تكوين مستحلب غير مستقر . ولا يوجد نظام واحد لوسط الاستشعار المرتبط Phase boundary sensor على مستوى العالم .

التطاير الوميضى فى التحاليل المستمرة الانسياب

Flash vaporization in continuous flow analysis

فى التكنولوجيا المعروفة technican API وجد ان اختبار التقطير الوميضى له استخدامات متعددة ، وهو انه اسلوب بسيط للتنقية تمكن من ازالة جميع المركبات المتداخلة من الجواهر الكشافة المتدفقة . ومنذ تقديم التكنولوجيا (AA2) بدأ نسيان الاسلوب الاول وهذا قد يرجع إلى نقص الوحدات المجهزة تجاريا . وآخر وحدة صممها How & Duncombe عام ١٩٦٧

استخدمت لتقدير الالدهيدات والكيتونات فى المزارع التجريبية للكائنات الدقيقة . ولقد استخدمت الوحدة التى صممها Sawyer & Dixon عام ١٩٦٨ فى تقدير الكحولات والاحماض فى البيرة ثم تم تطوير الطريقة وتحسين معايير القياس مما ادى الى التغلب على تذبذب النتائج فى النظام الأولى الذى فيه مصادر مختلفة للعمليات خارج نطاق التحكم نظرا لاختلاف الظروف فى الملف . وبالاضافة الى ذلك فان فصل المواد الغير متطايرة الناتجة كعوادم عن الوسط المتطاير يحدث خارج اناء وحدة التقطير . وتعتبر فقاعات الهواء الموجودة فى المواد السارية مسئولة عن بعض العمليات .

ان استخدام هذه الوسيلة فى التحليل الروتينى للعينات على مستوى العالم تؤكد اهمية الالمام باصول الكيمياء فى هذه العمليات ، حيث تستخدم فى تحليل البيرة والخمور لتقدير نسبة حامض الكحول ومحتوى السكر . بالرغم من ان الطريقة اثبتت كفاءة فى محاليل الكحول والماء . اظهرت التحاليل ان النتائج الخاصة بعينات البيرة كانت منخفضة وهذا يرجع الى احتواء العينة على بعض المواد البروتينية التى تؤثر على معدلات تقطير الكحول مما أعطى نتائج مختلفة . ومن ثم تؤدى اضافة المواد الناشرة (١,٠ ٪ نونكس) تيار الماء المتدفق للتغلب على التذبذب . وتحتوى الخمور على ٣٠ ٪ (وزن / حجم) سكر مما يعطى اختلافات مؤثرة على معدل التقطير . لذلك فان اضافة محلول ٢ ٪ سكر ومحول ٢ ٪ امونيا الى ماء الغسيل تحسن من كفاءة التقطير لأنها تعادل الحامض وتلغى اثر السكر .

وحيث ان وحدة التقطير الوميضى كما وصفت اعلاه لها العديد من الاستخدامات فى الطريقة (AAI) الا انها يمكن ان تدمج مع تكنولوجيا الطريقة (AA2) . ولتقدير ثانى اكسيد الكبريت فى الخمور والمشروبات يكون لهذا التكتيك مميزات عديدة تفوق الطرق التجارية اعتمادا على الغلاف الغازى .

استخدام الكروماتوجرافى Chromatographic applications :

تم جعل العديد من الاستخدامات الكروماتوجرافية تعمل بصورة آلية خاصة حقن العينات وكذلك تجهيز النتائج وعمل التقرير . ويمكن ان تستغل قوة فصل العمود فى عمليات ما قبل المعاملة . وقد طور جهاز آلى لتحليل Furfur aldehyde فى الزيت للفصل الأولى فى عمود الكروماتوجرافى الغازى المرتبط بالجوهر الكشاف اللونى المتخصص فى تيار السائل المستمر فى التدفق . ويزود الجهاز بوحدة ترجيع مما يزيد من طول فترة حياة العمود ويزيل الايدروكربونات الثقيلة من تيار الغاز . وتعطى الطريقة قمة فردية واحدة على الكروماتوجرام للعينات المحتوية على الفورفورالدهيد الذى أمكن تعريفه باشارة أو ومضة (a) وكذلك فترة الارتباط Retention time d(b) . ومن اهم مواصفات الجهاز هو التصميم الخاص بالسطح بين فتحة خروج الجهاز GC وتيار سريان السائل . ويستخدم التصميم جهاز الكروماتوجرافى الغازى التقليدى المزود بمحقن آلى وبكشاف تقليدى يمكن استبداله بجهاز قياس الالوان . ويمكن ان يزود الجهاز بكاشفات اخرى تعطى مزيدا من التقديرات مثل الالدهيدات فى دخان السجائر .

وغالبية النظم التجارية المرتبطة بالكروماتوجرافى الغازى والـ HPLC تعطى قليل من الاهتمام

لمشكلة تجهيز العينات . ومن الناحية العملية هناك امثلة قليلة تشير الى عدم اهمية المعاملة المسبقة قبل الحقن فى العمود . ولقد وضع نظام متكامل الالية لتحليل الايثانول فى بعض المركزات العطرية . وهناك بعض الاجهزة ادمجت فيها المعاملة المسبقة بناء على النظام الذاتى للتحليل لجهاز Auto analyzer المرتبط مع جهاز GC المزود بنظام تجهيز النتائج . ويستخدم اسلوب خاص فى المحقن لنقل العينات من الوصلات الى عمود الكروماتوجرافى الغازى . وتوجه العينات التى سبق معالجتها للاناء البين سطحى باستخدام صمام ثنائى الاتجاهات . ويتم حقن محلول واحد ميكروليتر فى عمود الكروماتوجرافى الغازى خلال الانبوبة الشعرية باستخدام نظام زائد الضغط . وحديثا تم عمل نفس النظام مع جهاز الكرماتوجرافى السائل على الضغط HPLC ويقوم الصمام الخاص بالعينة بسطح الحقن .

الاستنتاجات Conclusions :

حديثا تم تطوير مجالين ذات اهمية تجارية الأول يتمثل فى ادخال طرق الإنعكاس بالاشعة تحت الحمراء مما ادى الى تفادى العديد من المعاملات المسبقة اللازمة للتحليل التقليدى والثانى استخدام الانسان الالى لميكنة جميع العمليات اليدوية . وقد تم ادخال هذا التكنيك فى البداية لتقدير الرطوبة ونسبة الزيت والدهن فى منتجات الحبوب . وتم تطوير العديد من الأجهزة فى شركات مختلفة وتم احلال مجموعة من الطرق والخطوات الكيميائية بمقاييس كهربية فى كل من المناطق الستة للاشعة تحت الحمراء بالمعايرة مع نظام الكمبيوتر المناسب ولقد ساهم هذا النظام فى حل الكثير من المشاكل .

REFERENCES قائمة المراجع

1 . R. Sawyer and E. J. Dixon, The Analyst 93 669 (1968)

2 . R. Sawyer and E. J. Dixon, The Analyst 93 680 (1968)

3 . R. Sawyer, E. J. Dixon and E. Johnson, The Analyst 24 1010 (1969)

4 . R. Sawyer, E. J. Dixon, R. G. Lidzey and P. B. Stockwell, The Analyst 95 957 (1970)

5 . J. M. Carter and G. Nickless, The Analyst 95 148 (1970)

6 . Bo karlberg and S. Thelander, Anal. Chim. Acta 98 1 (1978)

7 . G.G. Vallis, UK Patent application 14964/67 (1967)

8 . N.G. Anderson, Am. J. Clin. Pathol 53 778 d(1970)

9 . R. W. Arndt, W. Schurmann, H. Bartels and H.D. Werder, J. Automatic Chemistry 1 28 (1978)

10. J.G. williams and P. B. Stockwell, UK Patent application 8023547 (1980)

11. J. G. Williams, P. B. Stockwell, M. Holmes and D. G. Porter, J. Automatic Chemistry 3 82 (1981)

12. Trowell, Lab. Pract. 18 144 (k1969)

13. P. B. Stockwell, Proc. Anal. Div. Chem. Soc. 12 273 (1975)

14. R. H. Mandi, L. H. Weinstein, dJ. S. Jacobson, D. C. McCune and A. E. Hitchcode, Automation in Analytical Chemistry, Proc. Technicon Symposium. Tecnicon Inc./ Mediad Inc., New York pp. 270-273 (1966)

15. J. Keay and P.M.A. Menage, The Analyst 95 379 (1970)

16. R. E. Duncombe and W. H. C.K Shaw, Automation in Analytical Chemistry 1966 (Proc. Techniscon Symposium), Vol. 2, Mkediad Inc., New York pp. 15-18 (1967)

17. R. G. Lidzey, R. Sawyer and P. B. Stockwell, Lab. Pract. 20 213-216 and 219 (1971)

18. N. Jennings, N. G. bunton, N.T. Crosby and T. G. Alliston, J. Assoc. Public Analysts 16 59 d(1978)

19. R. G. Lidzey and P. B. Stockwell, The Analyst 99 749 (1974)

20. P. B. Stockwell, Lab. Pract. 27 715 (1978)

21. P. B. Stockwell and R. Sawyer, Anal. Chem., 42 1136 (1970)

22. K. H. Norris and J. R. Hart, Proc. Internat. Symp. (1963) on Humidity and Aloistrine, Reinhold, New York, pp. 14 and 19-25 (1965)

الفصـــل الســابـع

– اساسيات عمليات الاستخلاص والتنظيف فى تقدير المخلفات

* مقدمــــــة
* الاستخلاص بالمذيبات
* طرق تنظيف العينات
* تركيز العينات فى المستخلصات
* طرق عامة للفصل



اساسيات عمليات الاستخلاص والتنظيف فى تقدير المخلفات

Extraction and clean-up procedure

مقدمـــــة :

الخطوة الأولى فى تحليل مخلفات المبيدات تتمثل فى عزلها وفصلها من المواد النباتية أو الحيوانية من خلال الاستخلاص بالمذيبات العضوية . يجب اختيار المذيب المناسب بحيث يكون قادرا على فصل المبيد باسلوب مناسب وبكفاءة مؤكدة ومستمرة دون أن يستخلص كميات كبيرة من المواد المتداخلة فى العملية وكذلك تكون له المقدرة على تأدية العمل مع مجموعة كبيرة من النباتات (المحاصيل) بدون حاجة الى تحويرات جوهرية مع كل محصول . نود الاشارة فى هذا السبيل الى ان عدم فهم القائم بالتحليل لأهمية وأصول عمليات الاستخلاص والعوامل المحددة للكفاءة وكذلك عدم المعرفة الى فشل فى كثير من الحالات التى اضطلع بها المؤلف خاصة مع المبيد ات الكلورينية ومازلت اذكر ما حدث عندما كنت استخلص المبيدات من التربة المعاملة باستخدام الكلوروفورم وتكوين كريات صغيرة جدا أدت الى نقص فى كفاءة الاستخلاص بما لا يزيد عن ٤٠ ٪ وبعد القراءات تأكد ضرورة تجفيف العينات أولا ثم اجراء عمليات الاستخلاص بالمذيب المناسب . ويعتقد بعض البحاث امكانية اجراء الإستخلاص والتقدير مباشرة اذا كان الوسط هو الماء المحتوية على المبيد وهذا لا يصلح تحت جميع الظروف ومع جميع المبيدات . على الباحث ان يعرف معنى القطبية وكيفية اختيار المذيب والتوافق بين مخاليط المذيبات وعليه ان يلم كذلك بمواصفات ومحتويات العينات محل التحليل .

ولقد استحدثت التكنولوجيا الحديثة امكانية استخلاص العينات بطرق متقدمة جدا وسهلة وبسيطة ولكنها مكلفة فى البداية بسبب ارتفاع اسعار الاجهزة ذات الكفاءة العالية وما يترتب عليها كما شاهدتها فى معامل وزارة الزراعة الامريكية فى ولاية ميرلاند عام ١٩٩٤ . وهناك طرق للتحليل والكشف عن مخلفات المبيدات لا تجرى فيها عمليات الاستخلاص . وليكن معلوما ان لكل طريقة مميزات وعيوب وعلى الباحث ان يركز على المميزات ويتلافى العيوب والاساس الذى لا يقبل الخطأ هو معدل الاسترجاع واى طريقة او مذيب تعطى معدل استرجاع عالية يمكن الوثوق فيها ولا يجب ان يكون العامل محددا لاختيار طرق قليلة النفقات خاصة اذا كنا بصدد الاضطلاع بمشكلة المخلفات فى المواد الغذائية أو الهواء أو الماء وغير ذلك من المكونات البيئية ذات الصلة الوثيقة بصحة الانسان . لا يجب ان يختار المذيب بصورة عشوائية وانما ينصح بالرجوع الى الجداول المعنية فى كتب ونشرات تحليل المبيدات ..

*** الاستخلاص بالمذيبات Solvent extraction :**

فى السنوات الاخيرة إستحدثت العديد من نظم استخلاص المبيدات من المحاصيل المختلفة . ولن نتعرض فى هذا المقام لهذه النظم بالتفصيل ولكن سنكتفى فقط بالنظم والخطوات التى ثبت

نجاحها فى تحقيق استخلاص معقول تبعا لاحتياجات التحليل . كما سبق القول على القائم بالتحليل ان يراعى وبدقة فهم طريقة التحليل قبل ان يحدد ويشرع فى الاستخلاص ، وعلى سبيل المثال اذا كان التحليل يشمل مبيد اللندين والطريقة المتبعة تعتمد على الكشف عن حلقات البنزين فى المركب فلا يجب بل لا يمكن التفكير فى الاستخلاص بالبنزين . ونفس الشئ مع الكلثين (وهو مبيد اكاروسى واسع الانتشار) يعتمد التقدير النهائى له على الكشف عن الكلوروفورم لذلك لا يمكن استخدام الكلوروفورم فى الاستخلاص . ولا يمكن استخدام المذيبات الكلورينية فى حالة الكشف عن وتقدير المبيدات الكلورينية العضوية فى عمليات الاستخلاص .

اذا لم تكن بيانات نقاوة المذيبات العضوية التى تستخدم فى الاستخلاص متوفرة ودقيقة يجب تقدير هذه المذيبات للتأكد من نقاوتها خاصة المذيبات الكلورينية مثل الكلوروفورم والميثيلين كلوريد ورابع كلوريد الكربون . لأن هذه المذيبات تكون الفوسجين وهو غاز سام لا يخشى من تداخله مع طريقة الكشف فقط ولكن يخشى من خطورته على القائم بالتحليل . المذيبات يجب ان تقطر فى اجهزة زجاجية مع تفادى ملامستها لأية اغطية بلاستيكية أو مطاطية بخلاف التيفلون . المذيبات الايثيرية يجب ان تقطر لمدة قصيرة بما يتيح التخلص من البيروكسيدات . وليكن معلوما ان الاوانى الزجاجية المحتوية على بيروكسيدات الايثير لا يجب ان يسمح بجفاف المستخلص فيها . لقد ثبت حدوث فقد كبير عند تجفيف المستخلصات المحتوية على المبيدات الكلورينية العضوية وكذلك الفوسفورية لقلة ثباتها .

لقد ثبت ان الاستخلاص بالمذيبات (المبلول) Wet processing extracts ملائمة لاسترجاع معظم مخلفات المبيدات الموجودة فى المستخلصات وهناك طريقتان لاستخلاص المبيدات فيما عدا الذائب فى الماء تتمثل فى استخدام مخلوط البنزين والكحول او الكلوروفورم من المواد الزراعية الخام او المجهزة . الأولى تتمثل فى بالإستخلاص بالرج مع المذيب وهذه تتميز بالمقدرة على استخلاص المبيد دون المواد المتداخلة وهى تفيد وينصح بها فى حالة الخضر والفاكهة المحتوية على المبيدات السطحية التى لا تمتص فى الداخل فى الانسجة النباتية . تقطع العينات النباتية الى قطع صغيرة لا تتعدى البوصة كما فى الكرنب والتفاح والخوخ وتوضع فى وحدة الإستخلاص مع حجم من المذيب يساوى او ضعف وزن العينة ويتم الرج لمدة نصف ساعة على الاقل وبعد ذلك يتم الترشيح على الورق او من خلال كبريتات الصوديوم اللامائية للتخلص من الماء . يجب التأكد من ان المواد الجافة المستخدمة لا تدمص المبيد .

الطريقة الثانية تتمثل بخلط العينة وتكسيرها مع مذيب او اكثر فى الخلاط الكهربى وهى تصلح مع معظم المبيدات ولقد ثبت ان استخدام مذيبين افضل . يفضل ان يكون الخلاط مناسبا لإستخدام المذيبات العضوية (زجاج) ويتفادى الغطاء البلاستيك ، كما يجب ان يكون الخلاط غير قابل للكسر ويفضل العديد من البحاث تكسير العينات النباتية مع كحول الايثايل او الايزوبروبايل قبل اضافة المذيب الغير قابل للخلط مع الماء والاخير يضاف فى حدود ٢ ملليلتر لكل جرام مادة نباتية ..

هناك طرق كثيرة للإستخلاص نذكر منها : (١) الطريقة العامة باستخدام زوج من المذيبات وهذه تتميز بالسرعة والكفاءة العالية فى الاسترجاع وعدم تكوين مستحلبات . لكل جزء عينة يضاف ٢ جزء بنزين واربعة اجزاء من الكحول الايثيلى او الايزوبروبيل ثم يتم الخلط فى الخلاط لمدة ٤ – ٥ دقائق ويسكب فى انابيب جهاز الطرد المركزى حيث تتركز المادة الصلبة فى قاع الانبوبة بعد الرج . تؤخذ الطبقة العليا السائلة فى قمع فصل سعة واحد لتر (٣٠٠ – ٤٠٠ ملليلتر فى كل قمع) ثم يضاف حوالى ١٠٠ ملليلتر من محلول ملحى مشبع لكسر المستحلبات ثم يضاف الماء حتى إمتلأ القمع تقريبا . يتم الرج حيث ينفصل البنزين ويتم استبعاد طبقة الماء . يتم غسل مستخلص البنزين بالماء ويجفف بكمية من كبريتات الصوديوم اللامائية . ان استخدام كمية كبيرة من الكحولات تعمل على تجفيف العينات ومنع تكوين المستحلبات التى تسبب مشكلة كبيرة مع المحاصيل الرطبة . لا يفضل استخدام اقماع الفصل الاكبر من واحد لتر لأن كسرها يحدث إضراراً ويفضل ان يزود القمع بصنبور من التيفلون . ولقد تأكد بالتجريب افضلية استخدام مذيبان فى الإستخلاص بالمقارنة بمذيب واحد فى استرجاع مبيد DDD من السبانخ المجهزة والمحفوظة فى العلب وكانت النظم بنزين منفرد بالمقارنة مع نظام البنزين – ايروبروبايل .

فى حالة المبيدات الفوسفورية العضوية الجهازية والتى تمثل فى داخل الانسجة النباتية يستخدم مذيب الكلوروفورم لاستخلاص نواتج التمثيل بمعدل ٤ – ٥ اجزاء كلوروفورم لكل جزء نباتى . ان استخلاص المواد الدهنية والزيتية من اصعب المشاكل التى تجابه القائم بالكشف عن مخلفات المبيدات لأن المهمة تتمثل فى فصل المبيد من الدهن أو الزيت . من احس الطرق اجراء الاستخلاص بمذيب الاسيتونتريل فى الخلاط مع العينة ثم يجرى طرد مركزى للمخلوط ثم تفصل طبقة الاسيتونتريل ويعاد الإستخلاص للمواد الدهنية مرة اخرى بنفس المذيب ويفضل استخدام ٢ جزء من الاسيتونتريل لكل جزء مادة نباتية وتكرر عملية الاستخلاص ثلاثة مرات وهذه كافية لاسترجاع معظم المبيد . بالنسبة للفصل من دهن الحيوانات تتبع نفس الطريقة فيما عدا فصل الاسيتونتريل بالترشيح على ورق واتمان رقم (١٢) ونحصل على نتائج افضل اذا تم تبريد المذيب والعينة قبل الاستخلاص .

فى حالة بعض المواد الدهنية كثمار الافوكادو يتم الاستخلاص بالهكسان ثم يفصل بالطرد المركزى ويعاد الاستخلاص بالاسيتونتريل حيث ان الاستخلاص المباشر بالاسيتونتريل يسمح باستخلاص العديد من المواد الذائبة فى الماء . يمكن نزع المبيد من الاسيتونتريل باضافة الماء بحيث لا يزيد تركيز الاسيتونتريل عن ٢٠ ٪ ثم يستخلص المخلوط بالهكسان او الكلوروفورم او البنتان . فى بعض الحالات يكون الاسيتونتريل محتويا على كميات كبيرة من المواد الدهنية وهذه يمكن ازالتها بتخفيف الاسيتونتريل بالماء حتى تركيز ٦٥ ٪ ثم يمرر المخلوط خلال عمود من الالومينا .

هناك جدل كبير بين رجال تحليل المبيدات عن تخزين المستخلصات ويمكن ببساطة شديدة الرجوع لما نشره البحاث Patterson and Lehonan عام ١٩٥٣ من ان المحاليل المستخلصة

يجب ان تخزن تحت ظروف لا تسمح بحدوث اى تغير فى المبيد حتى يحين موعد التحليل النهائى . اذا لم يكن هناك مفر من التأخير فى التحليل يجب اجراء تجربة استرجاع recovery تحت نفس ظروف الاستخلاص . وحتى تحت الظروف المناسبة لا ينصح بتخزين المستلخلصات لمدة طويلة . يجب ان تخزن المستخلصات على درجة الصفر المئوى فى زجاجيات محكمة الغلق حولها الومنيوم ويجب تجنب لف الاغطية بالشمع حيث انه يذوب بسهولة فى المذيبات العضوية وليكن معلوما انه حتى على درجات الحرارة المنخفضة يحدث فقد للمبيدات ومثال ذلك ما يحدث من فقد لمبيد السيفين فى الكلوروفورم على درجات الحرارة الواطية جدا ولو ان اضافة القليل من الايثانول يساعد فى حفظ السيفين من الانهيار . وخلاصة القول انه يجب تحليل المستخلصات فور اعدادها الا اذا كانت هناك ادلة موثوق فيها تؤكد ثبات المادة الفعالة للمبيد فى المذيب . يفيد جدا اتباع اسلوب التجريب باضافة كمية معلومة من المبيد الى كمية معلومة من المستخلص النباتى الخام منه (المقارنة) وتخزن العينة المقواة تحت نفس الظروف . ويتم تقدير معدل الاسترجاع . اما كمية المبيد المقوى تتوقف على الكمية المحتمل وجودها فى العينات وينصح بان تكون فى حدود ١٠ امثال الكمية التى تحدها حساسية الطريقة والجهاز .

*** طرق تنظيف العينات Clean-up procedures :**

مع زيادة عدد المبيدات وتعاظم دورها فى المكافحة والتوسع المخيف فى استخدامها كان لا بد من تطوير طرق مختلفة للكشف عنها فى المكونات البيئية وكلما كانت الطريقة اكثر حساسية امكن الكشف عن الكميات الضئيلة وهذا يستدعى اجراء عمليات تنظيف وتخليص العينات من الشوائب والمواد المتداخلة . وكان المنطق القديم يقضي بأنه لزيادة حساسية التحليل يجب زيادة حجم العينة وهذا شئ ليس بالسهل او حتى فى المتناول فى كثير من الاحيان . ان معظم إن لم تكن جميع طرق التحليل تحتاج لتخليص العينات من الصبغات والدهون والشموع وغيرها وهناك طرق تنظيف متخصصة لكل مبيد وما يعنينى هنا تناول طريقة أو اكثر عامة تفيد مع معظم انواع المبيدات فيما عدا تلك التى تذوب فى الماء .

معظم طرق التحليل الحديثة تعتمد على اجراء تفاعل مع بعض المواقع او المجاميع الخاصة الموجودة فى جزئ المبيد ومثال ذلك لتكوين لون تتداخل المستخلصات النباتية والحيوانية بطريقتين الاولى ان المستخلص يمكن ان يمنع المبيد من التفاعل مع الجوهر الكشاف الملون او المكون للون او ان المستخلص نفسه قد يعطى لون او منتجات لونية عادة صفراء او بنية مع الجوهر الكشاف الملون . ولتحقيق حساسية الطريقة يجب التخلص من جميع المواد المتداخلة .

فى معظم الاحوال يتوقف نوع ودرجة التنظيف على طبيعة التحليل المطلوب فى المستخلص . اذا كان التحليل يتضمن طريقة يحدث معها تداخل من جميع المواد العضوية يجب ان يتوخى الحذر فى عمليات التنظيف ومثال ذلك عند تقدير مبيد ٢ و ٤ – د حيث يحدث التفاعل اللونى النهائى فى حامض الكبريتيك المركز الساخن . وعلى النقيض عندما يجرى الكشف عن

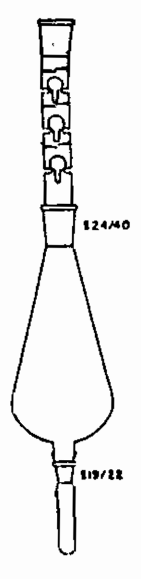
الـ د د ت فى المستخلصات الخالية من الدهن بطريقة Schechter-Haller لا تحتاج الا لتنظيف بسيط. وخلاصة القول انه يجب اجراء عمليات التنظيف كلما كان ذلك ضروريا حيث انه حتى احسن الطرق فى التحليل تزيل كمية من المبيدات . وأى طريقة تنظيف يجب الا يقل معدل الاسترجاع عن ٧٥ – ٨٠ ٪ من المبيد المضاف . يفضل ان يجرى اختبار اولى للتأكد من كفاءة عملية التنظيف بتجربة او تجربتين للاسترجاع ، وقبل البدء فى تحليل العينات يجب مع كل سلسلة من العينات اجراء عينة او اثنين مقواة باضافة كمية معلومة من المبيد للمستخلصات ، كما يجب اجراء تحليل مقارن قياسى بدون مادة نباتية او حيوانية بحيث تجرى عليها جميع خطوات التنظيف مع كل مجموعة من العينات محل التحليل .

*** ١ – تركيز العينات فى المستخلصات :**

بعد استخلاص المبيد من المادة النباتية او الحيوانية يكون تركيز المبيد قليلا للغاية بدرجة لا تسمح بقياس كميته مباشرة أو يكون ذلك من الصعوبة بمكان لذلك وجب تركيز المبيد عن طريق التخلص من المذيب . التركيز والإزالة يمكن ان تتم بطرق متعددة ولكن تظل طريقتى التقطير والتبخير اكثرها سهولة من الناحية العملية .

* التبخير بالهواء Air evaporation فى العديد من الحالات يتم التبخير بامرار تيار هواء دافئ على سطح العينة أو بامرار هواء نقى من خلال مرشح او غاز النيتروجين على العينة الموجودة فى حمام مائى ساخن ويمكن الحصول على الهواء الساخن من خلال سخان كهربى مزود بمروحة أو بواسطة مجفف للشعر ، واذا كان التبخير سيجرى بالهواء المار فى انابيب المعمل يجب مروره خلال مرشح قبل الاستخدام مباشرة والمرشح يجب ان يختار بعناية بحيث يكون قادرا على ازالة الماء والزيت وجسيمات التراب . يجب الا تزيد درجة حرارة حمام الماء عن ٥٠ ° م وفى بعض الحالات يجب ان تكون الحرارة اقل من ذلك . اخر كمية من المذيب بعد التبخير يمكن التخلص منها عن طريق تيار من الهواء الهادئ على درجة حرارة الغرفة . وليكن معلوما على سبيل التذكرة – أنه كلما كانت كمية المواد المستخلصة قليلة كلما كانت فرصة فقد الماء بالتبخير كبيرة . ومن المفيد اضافة بعض نقاط من ايثيلين جليكول او حامض الاستياريك او اى زيت ابيض حيث تعمل كمواد حافظة خاصة المبيدات القياسية لتقليل فقدها بالتطاير خلال المراحل الاخيرة من التبخير .

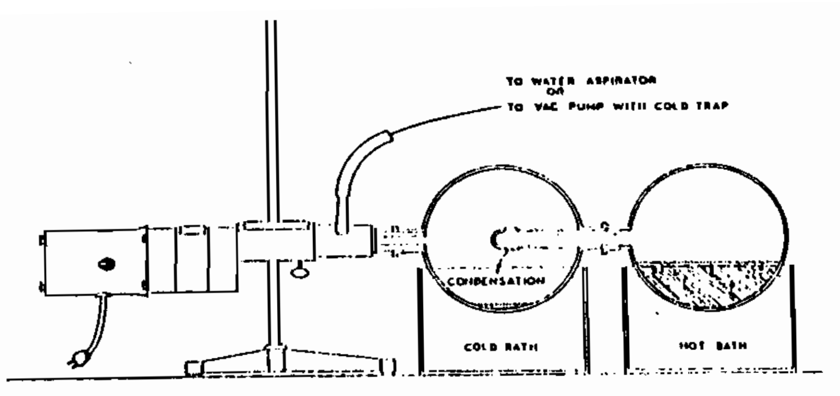
* هناك التركيز باستخدام وحدات كودرينا – دانيش kuderna - Danish وهو مناسب جدا لتركيز المستخلصات المحتوية على المبيدات والشكل التالى يعطى نموذج شائع جدا فى معامل التحليل .



شكل (٢) : مبخر ومركز ، عمود سيندر .

تملأ الوحدة الخاصة بالاستقبال بالمستخلص حتى العلامة الوسطية ثم تضاف قطعتان من مساعدات الغليان وتوضع الوحدة كلها فى حمام بخر بحيث يغمس الجزء السفلى (الثلث على الاقل) فى الحمام . توضع الوحدة فى خزانة الغازات الملائمة والمجهزة خصيصا لذلك حيث تسمح بخروج البخار بعيدا عن عمود سيندر synder column يمنع الفقد بسبب سريان الجسيمات فى المذيب حيث تصطاد الجسيمات بواسطة المذيب العائد للمستقبلة . البخار الذى يتكثف يعود مرة اخرى الى جوانب القابلات وعندما يقل حجم السائل يتم غسل المبيد فى المستقبل ثم ينقل كميا إلى المستقبل . عندما يتم النقل يزال المستقبل من القابلة ثم يزال المذيب المتبقى باستخدام تيار هادئ من الهواء . ويجب ان نتأكد من كفاءة هذا المبخر عن طريق اضافة كمية معينة من المبيد فى المذيب المراد تركيزه ونقدر معدل الاسترجاع .

* هناك التبخير بالتفريغ Vacum وهو يستخدم غالبا فى تركيز المحاليل الحساسة للحرارة . مبخر Rinco يستخدم الأساس الخاص بنشر فيلم رقيق من المحلول على سطح كبير، تدور ثم تعرض الى ضغط سالب . هذه الطريقة تناسب تركيز المستخلصات المحتوية على المبيدات . الشكل (٣) يعطى رسما لهذا النوع من المبخر . عندما يستخدم فى تبخير مركز ذو طبيعة مختلفة يجب ان تجرى تجربة استرجاع للتأكد من الكفاءة .



شكل (٣) : مبخر رينو الدوار والذى يعمل بالتفريغ مع وحدة مكثف المذيب واسترجاعه . يقترح للحمام الخاص بالتبريد :
(١) ثلج جاف واسيتون ، (٢) ماء مثلج ، (٣) ماء حنفية مستمر (دائرى)

* هناك طرق ذات صفة العالمية للعمل الروتينى لتقدير المبيدات مثل الكروماتوجرافى الورقى والغازى وطرق التقييم الحيوية وهذه تتطلب مستخلصات خالية تماما من المواد المتداخلة . لقد ثبت الكفاءة العالية لتنظيف العينات المحتوية على المبيدات تمكن من الحصول على مستخلصات خالية من الصبغات والدهون والشموع . توضع العينة فى البداية فى البنزين فيما يسمى بالطريقة المبتلة wet benzene والتى طورت بواسطة Cassiol وآخرون (١٩٦٠) ثم تمرر بعد ذلك فى عمود يحتوى على البولى ايثلين – الومينا . طريقة البنزين المبتلة تعتمد على ادمصاص الصبغات المتداخلة على الكربون النشط المغسول بالحامض والأتكلاى . ويستخدم مذيب البنزين المشبع مع الماء فى حالة المستخلصات النباتية . الماء يعمل على تحوير عمل مواد الادمصاص بحيث تصبح غير قادرة على ادمصاص المبيد . بسبب اهمية هذه الطريقة وللتاريخ حيث مر عليها ما يقرب من ٣٥ عاما حتى الآن نشير اليها بالتفصيل : تخلط خمسة اجزاء بالوزن من الأتكلاى مع جزء من الفحم المنشط . يتم تنشيط الفحم بالتسخين مع التقليب لكميات ٤٠٠ ملليلتر فحم مع ١٠٠ ملليلتر ماء مع ٣٠٠ ملليلتر حمض كبرتيك مركز عالى النقاوة لمدة ١ – ٢ ساعة فى حمام بخار . يتم ترشيح العجينة من خلال قمع بوخنر ثم تغسل بالماء الساخن حتى تتم معادلة المرشح ونتأكد من ذلك باستخدام دليل ميثيل البرتقالى . يتم التجفيف لمدة ٤٨ ساعة فى فرن مضبوط على درجة ١٣٠ م . تبرد ثم ترج حتى يتكون المسحوق . يتم تجهيز البنزين المبتل برج البنزين مع ماء مقطر ثم نستبعد طبقة الماء . يتم إستخلاص العينة بالخلط فى الخلاط مع البنزين والكحول ثم يطرد المخلوط فى جهاز الطرد المركزى لفصل وازالة المواد الصلبة ثم يزال الكحول من البنزين بالغسيل بالماء فى قمع الفصل . لا يجب ان يجفف المستخلص قبل الاستعمال . يضاف الى مستخلص البنزين فى ٥٠٠ ملليلتر دورق معيارى ١٠٠ جم من المادة النباتية ثم يضاف ١٠ جم من مخلوط الادمصاص ثم يرج القابلة لمدة ١,٥ دقيقة . بعد ان يستقر مخلوط الادمصاص يستبعد محلول البنزين خلال ورق ترشيح واتمان رقم ١٢ فى دورق معيارى سعة ٥٠٠ ملليلتر . يغسل مخلوط الادمصاص خمسة مرات باستخدام ٥٠ ملليلتر من البنزين المبتل وفى كل مرة يستبعد

الطبقـة الرائقة فى دورق معيارى . يتم تبخير البنزين حتى يصل حجمه الى ٣٠ ملليلتر باستخدام عمـود سنبدر ذو الكرات الثلاثة هنا يصبح المحلول جاهزا للتحليل او لعمليات تنقية اكثر . ولقد اتضح ان هذه الطريقة غير ضرورية فى جميع الاحوال بينما البنزين المبتل يمنع ادمصاص المبيدات مع الكربون .

* طريقة عمود البولى ايثلين – الومينا .. درس الباحثان جونز وزيديلك عام ١٩٥٢ التوزيع الجزئى للعديد من المبيدات بين الهكسان والأسيتونتريل . ولقد وجد ان الدهون والشموع تبقى فى طبقة الهكسان بينما تتوزع معظم المبيدات فى طبقة الاسيتونتريل . وفى عام ١٩٥٥ قام الباحث Eovin وزملاؤه باستبدال الهكسان بالبارافين المحمل على اكسيد الالومنيوم فى عمود وبعد ذلك تتم ازاحة المبيدات من العمود باستخدام مخلوط ٦٥ : ٣٥ اسيتونتريل : ماء بينما تتبقى الشموع والدهون على المادة الادمصاصية فى العمـود . ولسوء الحظ ان بعضا من البارافين يزاح فى العينة ويلوثها . وبعد ذلك استبدل Hoskins وزملاؤه عام ١٩٥٨ البارافين بالالومينا المغلفة بالبولى ايثيلين . هذه الطريقة تزيل معظم الدهون والشموع من المستخلص مع فقد ضئيل جدا فى كمية المبيد . العديد من المبيدات تزال من العمود باستخدام ٦٥ ٪ اسيتونتريل . ولن اكتب هذه الطريقة بالتفصيل منعا لضياع الوقت وعلى الباحث ان يبذل الجهد ويبحث فى المراجع للحصول على الطرق المناسبة بما يمكنه من تحقيق أعلى معدلات استرجاع .

* فى عام ١٩٦١ تم تطوير طريقة التنظيف باستخدام عمود سليكات الالومنيوم (Coulson وآخرون ١٩٦١) واستخدمت فى تحليل المبيدات فى المستخلصات النباتية . عندما حدثت نتائج متضاربة مع استخدام عمود الفلوروسيل قام البحاث بتجهيز عمود سليكات الالومنيوم من كلوريد الالومنيوم ورابع كلوريد السليكون . فى هذه الطريقة يتم استخلاص العينات بالطرق المناسبة ثم يبخر المذيب . يذاب الجزء الصلب المحتوى على المبيدات فى ١٠٠ ملليلتر Skellysolve - B ويجهز العمـود بطول عشرة بوصات وقطر داخلى ٨ ملليمتر ويجهز عمودين من التيفلون المملوء باربعة بوصات من سليكات الالومنيوم ٤٠/٦٠ مش مع طبقة ١ بوصة من كبريتات الصوديوم اللامائية فى قمة العمود . وهذه تمثل من ٣ – ٤,٥ جم من سليكات الالومنيوم . يوضع المذيب SK. B المحتوى على المبيد مباشرة على العمود . يمكن ازاحة الالدرين وال د د ت باستخدام المذيب Skelly Solve- B الذى جمع مع مذيب العينة ، اما معظم المبيدات الكلورينية الأخرى تزاح بواسطة ١٠٠ ملليلتر من الداى ايثيل ايتر فى الـ Sk. B اذا لم يكن هناك داعى للفصل يمكن الازاحة مباشرة باستخدام ١٠ ٪ داى ايثيل ايتر فى الـ Sk. B . يتم تركيز المترشح باستخدام مبخر كودرنا – دانيش ثم التحليل بعد ذلك . عندما نشرت هذه الطريقة لم تكن هناك بيانات كافية تؤكد امكانية هذا المذيب على إزاحة المبيدات الفوسفورية العضوية من العمود ويظل الفيصل فى كفاءة اى طريقة هو معدل استرجاع العينة المنقاة . ولقد طور coulson وزملاؤه عام (١٩٦١) هذه الطريقة لتحليل المبيدات الكلورينية فى الزبد حيث يتم الفصل الجزئى للمبيدات فى الاسيتو نتريل من محلول الهكسان للزبدة ثم تعاد لمذيب SK. B ثم يمرر فى عمود سليكات الالومنيوم .

* طرق عامة للفصل General separation procedures :

لقد نوقشت العديد من طرق الفصل والتنظيف والعديد منها اثبت كفاءة عالية وتم تحويره ليناسب نوع واحد من المبيدات ، وعلى الباحث ان يتاكد من كفاءة العملية عند العمل على مركب جديد من خلال العينات المقواة .. ومن هذه الطرق :

* **التوزيع الجزئى partition distribution** .. حيث يستخدم نوعان من المذيبات الغير قابلة للامتزاج والمبيد يجب ان يكون قابلا للذوبان فى كلا المذيبين بمعدل توزيع جزئى اكبر من (١) اما المواد او المستخلصات الخاصة بالمواد الحيوية يجب ان يكون معامل التوزيع لها اقل من (١) . المذيبان يجب ان يكونا غير قابلين للذوبان ولهما نقط غليان منخفضة ومن ثم يمكن فصلهما من المبيد . المذيبان يجب ان يختلفا فى الكثافة بحيث ان مخلوطهما يكون طبقتان .. ولتوضيح ذلك نقول ان السيكلوهكسان والاسيتونتريل غير قابلين للامتزاج حيث ان كثافتهما على درجة حرارة الغرفة تجعلهم لا يكونا طبقتان . لقد درس ريديك (١٩٥٢) التوزيع الجزئى بين الاسيتونتريل والهكسان العادى حيث يتم استخلاص النسيج النباتى بالهكسان العادى ثم يتبع ذلك استخلاص بالاسيتونتريل لطبقة الهكسان . تنتقل المبيدات من طبقة الهكسان العادى الى الاسيتونتريل بينما تظل معظم الدهون والزيوت والشموع فى طبقة الهكسان . تنقل طبقة الاسيتونتريل الى قمع فصل نظيف ثم يضاف الماء والهكسان النظيف ثم يرج القمع . الآن اصبحت المبيدات اكثر ذوبانا فى الهكسان عنه فى طبقة الاسيتونتريل والماء ، ثم تستبعد طبقة الاسيتونتريل – الماء ثم تجفف طبقة الهكسان العادى وتخزن للتحليل .

يمكن القول ان الهكسان والاسيتونتريل يمثلا زوجان مناسبان من المذيبات تستخدم لفصل المبيدات من العينات النباتية والحيوانية ... والجدول التالى يعتبر نموذج ولو انه قديم جدا منذ عام ١٩٥٢ (ريديك وجونز) لتوزيع المبيدات بين طبقتى الاستونتريل والهكسان . وقد وجد Bureb fied and storrs (١٩٥٣) افضلية مذيب ن.ن – داى ميثيل فورماميد عن الاسيتونتريل فى فصل مبيدى الـ ددت واللندين . ويفضل استبعاد النيتروميثان من ازواج المبيدات لخطورة الانفجار فى الوسط القلوى . ونفس الشئ مع مركبات الايثيلين والفورفورال والفينول التى قد تتداخل مع التحليل اللونى للمبيدات .

* هناك طريقة فصل الدهون والشموع عن المبيدات من خلال بلورة الشموع والدهون الموجودة فى المستخلصات النباتية وهذا يتوقف على عدم ذوبانها فى الاسيتون البارد . يتم تبخير عينة الاستخلاص ثم يذاب الراسب فى حجم صغير من الأسيتون الذى يبرد مما يؤدى الى ترسيب الدهون والشموع دون تكسير للمركب . والمواد المغسولة تزال بالترشيح تاركة المبيد فى مرشح الاسيتون ولقد استخدمت هذه الطريقة لتحليل المثوكسى كلور . ولقد دمج الباحثان Anglin and Mckinley .

جدول (٣) : توزيع المبيدات بين الاسيتونتريل والهكسان على درجة حرارة الغرفة .

المبيـــد	نسب المذيبيات : الحجم اسيتونتريل وهكسان							
	١ : ٣		١ : ٣		١ : ٣		١ : ٣	
	(أ)	(هـ)	(أ)	(هـ)	(أ)	(هـ)	(أ)	(هـ)
ريلدان	٨١	١٩	٩١	٩	٩٦	٤	٩٨	٢
ميثوكسي كلور	٨١	١٩	٩١	٩	٩٦	٤	٩٨	٢
باراثيون	٦٨	٣٢	٧٠	٣٠	٨٧	١٣	٩٦	٤
لندين	٦٨	٣٢	٧٠	٣٠	٨٦	١٤	٩٤	٦
كلوردين	٣٤	٦٦	٤١	٥٩	٥٩	٤١	٧٨	٢٢
د د ت	٣٢	٦٧	٤٠	٦٠	٥٧	٤٣	٧٥	٢٥

طريقة الاسيتون على درجة – ٧٠° م مع عمود الفلوروسيل ويمكن التوصية بهذا الاسلوب لتحليل الـ ددت والمركبات الشبيهة له ويصلح مع العديد من المحاصيل .

* هناك طريقة التنظيف من خلال عملية التصبن وهى محدودة الكفاءة Saponification حيث ان هناك القليل من المبيدات تقاوم التحلل فى الوسط القلوى مثل الالدرين والديلدرين والاندرين حيث يمكن تقديرها بالطريقة اللونية بطريقة الفينيل آزيد .

* من الممكن التخلص من المواد المتداخلة مع بعض المبيدات من خلال عمليات الاكسدة المتحكم فيها بشرط ان يكون المركب ثابتا تحت ظروف الاكسدة بينما المواد المراد التخلص منها تكون قابلة للأكسدة . جميع طرق الاكسدة يجب ان تؤكد كفاءتها من خلال العينات المقواة قبل ان تستخدم فى الكشف عن المخلفات . من احسن النجاحات فى هذه الطريقة ما اجرى على المبيدات الفوسفورية العضوية حيث تتأكسد الى الفوسفات غير العضوى بواسطة احماض البيركلوريك والناتج يقدر باجراء تفاعل لونى مع الموليبيدات .

* يمكن استخدام طريقة الاختزال للتخلص من الصبغات النباتية الموجودة فى المستخلصات . يتم تبخير المذيب ثم يذاب الراسب فى الميثانول ثم يشبع المحلول بأكسيد الكبريت . يبخر الميثانول ثم يضاف الماء ويعاد إستخلاص المبيد ثانية فى مذيب بترولى . من الأمثلة الناجحة اختزال مجموعة النيترو فى جزئ مبيد الباراثيون وتحويلها الى مجموعة أمينو ثم تتغير مجموعة النيترو الغير ذائبة فى الماء الى مركب امينو يذوب فى الاحماض المخففة وهذا يصبح الباراثيون المختزل متحررا من بقايا المواد المتداخلة الذائبة فى المذيب .

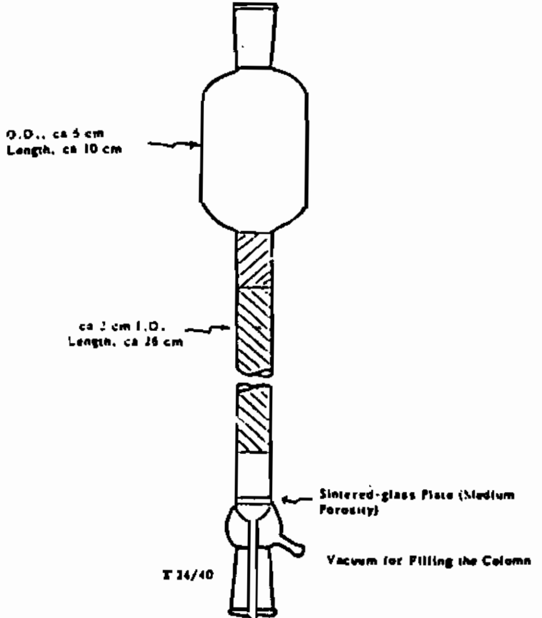
* يمكن تطوير طريقة التقطير بالبخار steam distillation لتنظيف العينات المحتوية على المبيدات . يمكن التخلص من بعض الزيوت الطبيعية والشموع بالتقطير البخارى ثم تفصل من

المبيدات الغير متطايرة الموجودة معها . بعض المبيدات تحلل مائيا لتكوين امينات عطرية أو فينولات . معظم الفينولات تتطاير بالبخار فى المحاليل الحامضية بينما الامينات العطرية تتطاير فى الوسط القلوى . يمكن استخدام هذه الطريقة للتخلص من المبيد او نواتج تحلله المائية من الانسجة النباتية ومن ثم تزيد كفاءة وحساسية طريقة التحليل .

* هناك التنظيف بطريقة الكروماتوجرافى chromatography وهو يشمل كروماتوجرافى الادمصاص adsorption والكروماتوجرافى الورقى paper وتبادل الايونات بالراتنجات ion - ex-change resins .. وسنشير فى عجالة بسيطة لهذه الطرق :

** بالنسبة لكرماتوجرافى الادمصاص ثبت كفاءة العديد من مواد الادمصاص مثل اكسيد الالومنيوم والفلوروسيل والأتكلاى وحمض السليسيك فى تنقية المستخلصات قبل التحليل . ولقد بدأت اول محاولة ناجحة عام ١٩٥٩ بواسطة Mckinley and Mahon حيث استخدما عمود الفلوروسيل مع مذيبات البتروليم ايثير والايثيل ايتر للازاحة وتمكنا بذلك من فصل المبيدات من المستخلصات المحتوية على الدهون . ولقد استخدم O'Donnell وآخرون عام ١٩٥٤ نظام مزدوج مكون من الادمصاص فى كأس الاستخلاص ثم عمود الكروماتوجرافى فى تقدير مبيد الالدرين فى البداية يعامل مستخلص الهكسان برجه مع خليط الكربون – ايثانول – حامض سيليسيك متبوعا بعمود كروماتوجرافى مع الاناسول . ولقد استخدم نفس البحاث اكسيد الماغنسيوم (الماجنيزيا) المسحوقة فى فصل المواد النباتية من مبيد الديلدرين . ويعيب الماجنيزيا ضرورة معايرتها قبل اى تحليل ومن الشائع استخدام الفحم المنشط والكربون فى تنقية المستخلصات قبل التحليل . ومن الضرورى معايرة كفاءة مواد الادمصاص والتأكد من خلال تجارب العينات المقواة ، لأن معظم المواد الادمصاصية تحتاج لمعايرة مستمرة بعد التخزين . وكفاءة مواد الادمصاص تقاس بحجم المزاح التى تعطى اقصى معدل استرجاع مع اقل فقد فى المبيد . المعايرة قد تتطلب وقتا كبيرا خاصة اذا كان تقدير المبيد يتم فى خطوات متتابعة بعد الكروماتوجرافى . يمكن الكشف عن مخلفات المبيدات بعد ازاحتها من العمود بالطرق الحيوية باستخدام حشرة الدروسوفيلا او الذبابة حيث يبخر المذيب ويعرض الحشرات لفيلم المبيد ولقد وجد ان معظم الحشرات تقتل بتركيزات فى حدود ١٠٠ ميكروجرام .

من الطرق التى يمكن ان تبسط معايرة كفاءة العمود اضافة كمية من المبيد المعلم بالاشعاع فى مكان معين من الجزئ إلى المستخلص ثم تجرى عملية الفصل الكروماتوجرافى وتجمع القطفات وتبخر ويقدر المبيد فى كل قطفة . وهناك العديد من مواد الادمصاص التى ثبت كفاءتها مع المبيدات مثل الالومينا المنشطة والكربون والأتكلاى والسيليكا جيل واكسيد الماغنسيوم والالومينا بولى ايثيلين ى. ولقد وجد ان الانبوبة الموضحة فى الشكل التالى مناسبة جدا لوضع مادة الادمصاص . وهى قد تستخدم مع التفريغ أو الضغط الخفيف . فى حالة الحجوم الصغيرة من المذيبات التى تقل نقطة غليانها عن ١٠٠° م يساعد الضغط فى الحصول على محلل جيد . يمكن تخزين مواد الادمصاص فى اوانى مغلقة تفتح عند الحاجة والعمل فقط . يجب الكشف عن سلوك



شكل (٤) : انبوبية الكروماتوجرافى المناسبة للعمل مع التفريغ أو الضغط

المادة الادمصاصية على فترات منتظمة وكذلك يجب الكشف عن سلامة المبيدات للتأكد من سلامتها لمادة العمود .

يمكن للكروماتوجرافى الورقى ان يعمل بنظام الفصل الجزئى حيث تعضد شرائط أو ألواح الورق بالوسط الغير متحرك بينما قوى الخاصة الشعرية تتحكم فى حركة المذيب على الورقة . الاستخدام الاساسى للكروماتوجرافى الورقى يتمثل فى فصل المبيدات بعد تنقية المستخلص . يفضل بل يجب تنقية المستخلص قبل اجراء عملية التنقيط على الورق . فى احد التقديرات ثم تنقيط مستخلص الاسيتون من جسم الصرصور على الورق وتم تنقية المستخلص بازاحة مذيب الاسيتونتريل لمسافة قصيرة ثم تزال الدهون الموجودة فى البقعة الاصلية وبعد ذلك يجرى الكروماتوجرافى بالمذيب المناسب .

فى السنوات الاخيرة تم تطوير جهاز الكروماتوجرافى الغازى لفصل وتعريف وتقدير المبيدات . ولقد قام Zweig وآخرون (١٩٦٠) بتمرير المستخلص خلال الجهاز ثم قاموا بامتصاص او تجميد المبيد الخارج مع تيار الغاز المتدفق ثم يقاس المبيد باستخدام طيف الاشعة فوق الحمراء أو بأى وسيلة كيميائية أو حيوية . وننصح فى هذا المقام بضرورة تنظيف العينات قبل حقنها فى الكروماتوجرافى الغازى وهذا يعطى فصل جيد ويطيل من عمر العمود .

* إن إستخدام نظام تبادل الايونات بالراتنجات محدود للمركبات التى تتفاعل مع المركبات الايونية . وقد قام بعض البحاث باستخدام الراتنجات Dowex لادمصاص الامينو ترايازول من مستخلص الميثانول والماء للنسيج النباتى . الراتنجات الانيونية تستخدم احيانا لادمصاص مبيدات الحشائش الحامضية من المستخلصات المائية للانسجة النباتية مثل ٢ ، ٤ - د . معدل الاسترجاع الواطى قد يرجع الى التفاعل الغير عكسى للمادة الحامضية مع الراتنج .

المراجـــع

Anglin, C., and McKinley, W. P. (1960). J. Agr. Food Chem. 8, 186.

Burchfield, H. P., and Storrs, dE. E. (1953). Contribs. Boyce Thompson Inst. 17, 333.

Cassil, C. C., Cortner. W., and Stoner, H. d(1960). Private communication.

Coulson, D. M., and Cavanach. L. A. (1961) 140th dNatl. Am. Chem. Soc. Meeting, Chicago, September.

Coulson, D. M., Cavanagh, L. A., DEVries J. E., and Walther, B. (1960). J. Agr. food Chem. 8, 899.

Coulson, D. M., Cavanagh, L. A., and Wilton, V. (1961), 18th Intern. Congr. Pure and Appl. Chem., Montreal, August.

Craig, L. C., and Craig. D. (1950). In "Technique of Organic Chemistry" (Weissberger, A., ed.), Vol. III. Chapter IV. Interscience, New York.

Erwin, ;W. R., Schiller, D., and Hoskins, W. M. (1955)k, J. Agr. Food Chem. 3, 676.

Fairing, J. D., and Warrington. H. P. (1950). In Advances in Chem. Ser. 1. p. 260.

Gunther, F. A., and Blinn, R. C. (1955). "Analysis of Insectricides and Acaricides," pp. 215-218. Interscience, New York.

Hoskins, W. M., Erwin. W. R., dMiskus, kR., Thornburg, W. W., and Werum, L. N. (1958). J. Agr. Food Chem. 6, 914.

Jones, L. R., and Riddick, J. A. (1952). Anal. Chem. 24, 569.

Major. kA., Jr., and Barry, H. C. d(1960). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 44, 202.

McKinley, W. P., and Mahon. J. H. (1959). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 42, 727.

Menn, J. J., Eldefrawi, M. E., and Gordon, H. T. (1960). J. Agr. Food Chem. 8, 41.

Mills, P. A. (1959). dJ. Assoc. Offic. Agr. Chemists 42. 784.

O'Donnell, A. E., Neal, M. M., Weiss, dsF. T., BAnn. J. M., DeCino. T. J., and Lau, S. C. (1954), J. Agr. Food Chem. 2. 373-80.

Patterson, W. I., and Lehman, A. J. d(1953), Assoc. Food & Drug Officials U.S. Quart. Bull. 17, 3-12.

Rosenthal, I., Frisone, G. J., and Gunther. F. A. (1957). J. Agr. Food Chem. 5, 514-17.

Schechter, M. S., and Hornstein, I. (1952). Anal. Chem. 24, 544-8.

Storherr, R. W., and Burke. J. (1960). In "Determination of 3-Amino 1, 2, 4-Traizole in Crops." div. of Food & Drug Admin., U.S. Dept. of Health. Education and Welfare, Washington, D. C.

Zweig, dG., Archer, T. E., and Rubenstein. kD. (1960). J. Agr. Food Chem. 8, 403-5.

Zweig, G. (1960). Private communication.

هذه المراجع بالرغم من مرور فترة طويلة تعدت الثلاثين عاما الا انها ضرورية ، ولكى تكتمل الصورة امام اى باحث عليه الرجوع الى المرجع الاساسى والرئيسى فى تحليل المبيدات :

Pesticide Analytical Manual

Vol. 1, Foods and Feeds.

الجزء الخاص بالاستخلاص والتنظيف وفيها قائمة بالمراجع الخاصة بهذا الجزء لكل نوع من الغذاء .

(١) المبيدات الكلورينية (الغير ايونية)

*** طرق عامة للأغذية الدهنية :**

Johnson, L., JAOAC 48, 668-675 (1955)
Wells, C., JAOAC 50, 1205-1215 (1967)
Carr. R. L., JAOAC 53, 152-154 (1970)
Carr. R. L., JAOAC 54, 525-527 (1971)
Krause, R.T., JAOAC 56, 721-727 (1973)
Sawyer, L. D., JAOAC 56, 1015-1023 (1973)
Sawyer, L. D., JAOAC 61, 282-1291 (1978)

*** طرق عامة للأغذية الغير دهنية :**

Krause, R. T., JAOAC 49, 460-463 (1966)
Gaul. J., JAOC 49, 463-467 (1966)
Davidson, A. W., JAOAC 49, 468-472 (1966)
Wells, C., JAOAC 50, 1205-1215 (1967).
Burke, J. A., JAOAC 51, 311-314 (1968)

Burke, J. A., JAOAC 53, 355-357 (1970)
Burke, J. A., JAOAC 54, 325-327 (1968)
Krause, R. T., JAOAC 56, 721-727 (1973)
Finsterwalder, kC. W., JAOAC 59, 169-172 (1976)

*** طرق تقدير احماض الكلوروفينوكسى والبنتاكلوروفينول :**

Hopper, M. L., J. Agr. Food Chem. (1982) 30, 1038-1041.
Hopper, M. L., LIB 2306, April 30, 1979.
Richelleu, M. E., Griffitt, K.R. and Cline, K., Private communication. April. 1982.
Griffitt, K.R. Cline, J. K., and Schmidt, R. J. LIB 2695. Feb. 15. 1983.
Hopper, M. L., J. Agr. Food Chem. (1987) 35, 1265-269.

(٢) المبيدات الفوسفورية العضوية :

*** طرق تقدير الأغذية الدهنية**

تستخلص الدهون بواسطة الفصل الجزئى بالاسيتونتريل وتجرى التنقية فى عمود الفلوروسيل والمرجع هو :

231.101 References. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytica Chemists 11th Eddition, Section 29.001, 29,005, 29.008 , 29.010-29.014 , 29.017. The AOAC method for fatty foods is officidal only for certain organochlorine and not for organo-phosphorous compounds.

*** طرق تقدير الاغذية الغير دهنية :**

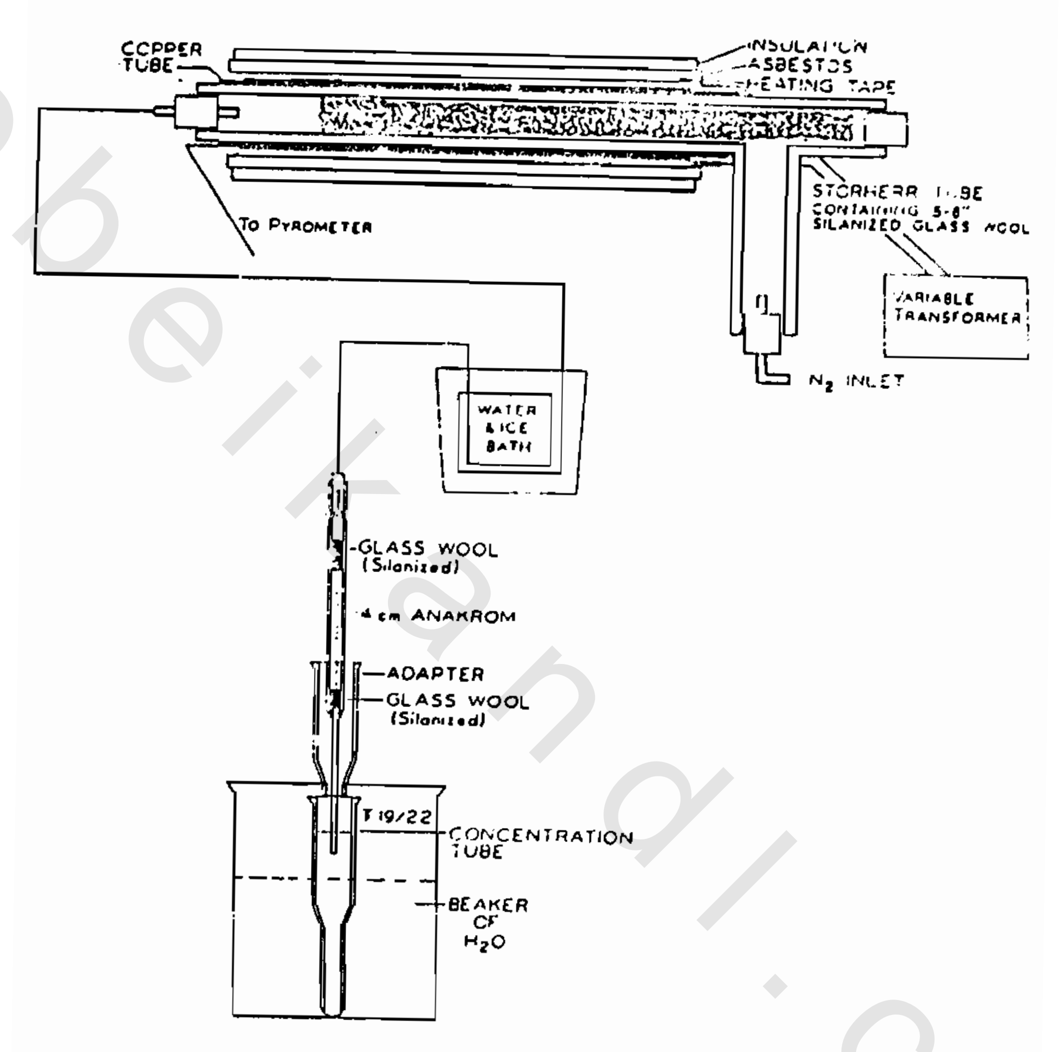
الاستخلاص بالاسيتونتريل - الاستخلاص بالماء / الاسبتونتريل - النقل الخاص بالاسيتونتريل المائى الى البتروليم ايثر والتنظيف فى عمود الفلوروسيل والمرجع هو :

232.101 References. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analyti Chemsis 11the Edition, Section 29.001, 29.002, 29.005, 29.008 , 29.009 , 29.012-29.014 , 29.0

Studies or recommendations leading to AOAC official status :

Wassel, J. R., JAOAC 50, 430-439 (1967)
Wells, C. E., JAOAC 50, 1205-1215 (1967).
Burke, J. A., JAOAC 54, 325-327 (1971)

يمكن اجراء عملية تنظيف العينات المحتوية على المبيدات الفوسفـــــورية بعملية التقطير Sweep - Co - distillation والمرجع الخاص بها والمبيدات التى تنجح معها وكذلك الجهاز موضح فى الشكل التالى :



232.201Reference, Changes in Official methodls of Analysis, JAOAC 51, 482-485 (1968). paragraph 24 (5). Method is official, first action, for parent organophosphate residues of carbophenothion, diazinon, ethion, malathion, methyl parathion, and parathion in kale, endive, carrots, lettuce, apples, potatoes, and strawberries (fresh or no-sugared frozen).

(1) Storherr, R. W. and Watts, R. R., JAOAC 48, 1145-1158 (1965)

(2) Watts, R. R. and Storherr, R. W., JAOAC 48, 1158-1160 (1965)

(3) Storherr, R. W. and Watts, R. R., JAOAC 51, 1662-665 (1968)

يمكن اجراء التنقية بعمود الكربون Carbon column والمرجع :

232.301 References. Storherr. R. W., Ott. P., and Watts, R. R., JAOAC 54, 513-516 (1971) Official Methods of Analysis of the AsIsociation of Official analytical Chemists 12th Edition. Section 29.002 (k), 29.005 , 29.008 (d) (1) or (2) , (e) , (f), and (k) , 29.001 (a) , (b) , 29.033 , 29.037 , 29.039 (i) , (j) and (k) ; Changes in Methods 29.034 (e), JAOAC 58, 397 (1975).

Study leading to AOAC offficial status :

Laski, R. R., JAOAC 57, 930-933 (1974).

(٣) مخلفات المبيدات العضوية النيتروجينية :

* فى المواد الغذائية الغير دهنية .

يتم الاستخلاص بالاسيتون والمرجع هو :

242.101 References. Luke, M. A., Froberg. J.E., and Masumoto, H. T., JAOAC 58 1020-1026 (1975).

(٤) مخلفات مبيدات ن - ميثيل كاربامات :

يتم الاستخلاص بالميثانول ويتم الفصل الجزئى فى الاسيتونتريل فى وجود كلوريد الصوديوم . يتم التخلص من مرافقات الاستخلاص بالفصل الجزئى فى البتروليم ايثر . المخلفات تفصل جزئيا فى الميثيلين كلوريد فى وجود محلول كلوريد الصوديوم وبعد ذلك يجفف محلول الميثلين كلوريد - اسيتونتريل حتى الجفاف ثم تجرى عملية تنقية اضافية باستخدام عمود الكربون والسيليت والازاحة بمحلول التولوين - اسيتونتريل . والمرجع هو :

Extralct residues from product with methanol

↓

Partition residues into acelonltrile

↓

shake with petroleum ether; discard petroleum ether

↓

Partition residues into methylene chloride; evaporate

↓

Cleanup on charcoal-sllanized Celite

↓

column; elute with toleuene-acetonitrile

↓

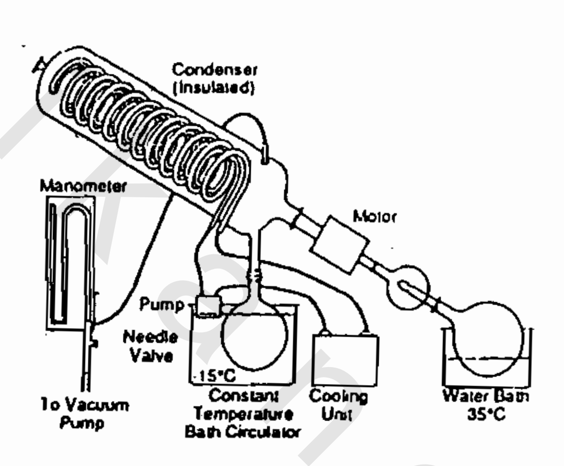
Evaporate eluate; dissolve in methanol

↓

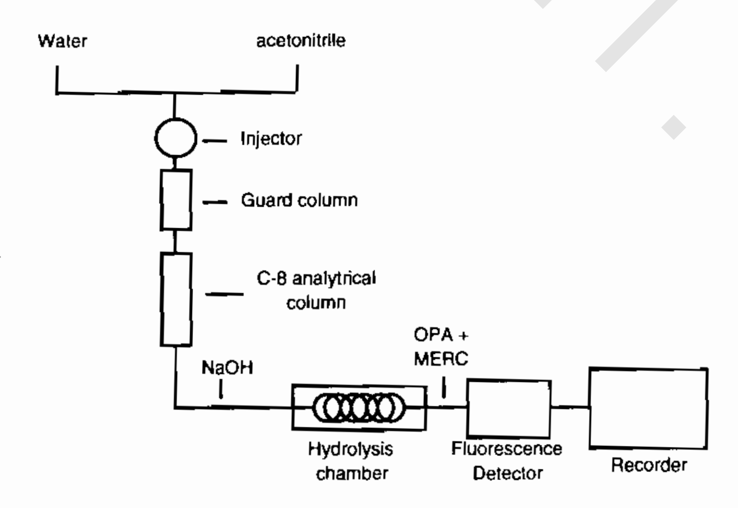
HPLC determinajtion;
reverse phase separation with in-line hydrolysis and
derivatization, and determination by fluorescence detector

References :
(1) Krause, R.T. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 63, 1114-1124 (1980)
(2) Krause, R.T. J. Chromatogr. Sci. 16, 281-288 (1978)
(3) Krause, R.T. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 68, 726-733 (1985) [collaborative study]
(4) Krause, R.T. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 68, 734-741 (1985)
(5) Krause, R.T. J. Chromatogr. 158, 615-624 (1979)
(6) Krause, R.T. J. Chromatogr. 442, 333-343 (1988)

والشكل التالى يوضح جهاز التبخير الدائرى (الدوار) الخاص بمخلفات الكاربامات ونواتج تمثيلها على ان يتم الكشف والتقدير النهائى باستخدام جهاز HPLC ....



Vacuum Rotary Evaporator



HPLC System

الجدول التالى يوضح قائمة الكيميائيات التى يتم الكشف عنها بكاشف الفلورسنس مع عمليات التحلل المائى والتحول التى تلى التنقية فى الاعمدة الكروماتوجرافية .

Chemicals Determined by Fluorescence Detector
Follow9ing Post-Column Hydrolysis and Derivatization [1.2]

EPA/FDA Std. No.	Chemical	Recovery	C.8 Column Retention Time Relative to Carbofuran	Response (ng to cause 50% FSD)[3]
60	aldicarb[4]	C	0.83	14
62	aldoxycarb4 (aldicarb sulfone)	C	0.40	9
61	aldicarb sulfoxide	P (50-60%)	0.33	9
472	bendiocarb	C	1.00	10
0791	BPMC	C	1.47	10
960	bufencarb[4]	C	1.44[5]	19
F758	butocarboxim	C	0.75	15
1060	carbaryl[4]	C	1.06	7
1040	carbofuran[4]	C	1.00	10
2573	dioxacarb	C	0.67	15
F864	ethiofencarb	P (70-82%)[6]	1.10	15
4062	isoprocarb	C	1.13	8
4500	methiocarb[4]	C	1.26	10
F600	methiocarb sulfone	C	0.79	11
F599	methiocarb sulfoxide	C	0.64	12
4520	methomyl[4]	C	0.46	10
F827	metholcarb	C	0.85	10
5186	oxamyl[4]	C	0.44	10
5752	promecarb	C	0.56	10
440	propoxur	C	1.98	8
F681	thiodicarb	P (40-60%)[7]	0.99	11
F430	trimethacarb, 2,3,5-isomer	C		
F431	trimethacarb, 3,4,5-isomer	C		
F922	XMC	C	1.06	10
1041	3-hydroxycarbofurna[4]	C	0.60	10
	3-hydroxymethyl-2,5-dimethyl-pheny methlcarblamate[8]	P (ca 70%)		
	3-hydroxymethyl-4,5-dimethyl-			

pheny methlcarblamate[8]	C
3-hydroxymethyl-3,5-dimethyl-pheny methlcarblamate[8]	C

1 . Detector excitation : 340 nm. 15 n m slit width; detector emission ; 455 nm. 12 nm slit width.

2 . Codes : C; complete (> 80%) recovery; P : partial (< 80%) recovery, with apporximate percent recovery given in parentheses, when known.

3 . When detector sensitivity is adjusted to provide 50% FSD to 10 ng carbofuran.

4 . Chemical for which method 242.2 is official AOAC on grapes and potatoes.

5 . Major peak.

6 . Breaks down to two peaks during analysis.

7 . Thlodicarb breaks down partially to methomyl during analysis. Complete recovery is calculated when methomyl level is included.

8 . Metabolites of trimethacarb.

الجدول التالى يوضح قائمة المركبات الكارباماتية التى يتم الكشف عنها بدون اجراء عمليات التحول بعد التنقية :

Naturally Fluuorescing Chemicals Determined by
Fluorescence Detector Without Post-Column Derivatization[1,2]

EPA/FDA Std. No.	Chemical	Recovery	Retention Time Relative to Carbofuran	Excitation Wavelenght nm	Emission Wavelength nm
1060	carbaryl	C		288	330
1040	carbofuran	C		288	330
2573	dioxacarb	C		265	294
4062	isoprocarb	C		264	292
4880	naphthalene acetamide	P (77)[3]		288	330
F214	naphthaleneacetic acid methyl ester	C		288	330
2010	napropamide	C		288	330
5520	phosalone	C		288	330
F642	phosalone oxygen analog	C		288	330
5620	piperonyl butoxide	C		288	330
440	propoxur	C		276	330
	triasulfuron[4]		0.81	288	330
	triasulfuron metabolite CGA-161149	V(43-99%)	0.73	288	330
	triasulfuron metabolite CGA-195654	V(15-132%)	0.73	288	330

1 . Hydrolysis chamber maiantained at am bient temperature. Optimum detector excitation and emission wavelengths listed for each chemical.
2 . Codes ; C : complete (>80%) recovery; O : partial (<80%) recovery, with approximate percent drecovery given in parentheses, when known; dV : variable (aaporximate percent range).
3 . complete recovery can be obtained by eluting charcoal-silanized Celite column, 242.223. with additional 100 mL petroleum ether.
4 . Chromatography not reliable reproducible, so method recoveries not run.

* وحتى لا أطيل على القارئ اضع بين يديه محتويات الباب الثانى من المؤلف الخاص بتحليل مخلفات المبيدات فى الاغذية والعلائق – الجزء الاول .. حيث يتناول هذا الباب كل ما يتعلق بالاستخلاص والتنظيف .

Chapter 2

EXTRACTION AND CLEANUP

Table of Contents

1. Date indicates current version.

الفصـــل الثـامــن

التقدم في طرق التنقية والاشتقاق لتحليل متبقيات مبيدات الآفات

* مقدمـــــة .

* التنقية المبسطة والكرماتوجرافى السائل لتقدير متبقيات الأوكساميل فى درنات البطاطا .

* طريقة بسيطة وفعالة للتنقية والتحليل الكرماتوجرافى الغازى الشعرى لمتبقيات الالديكارب ونواتج تأكسده فى اوراق الكريزانثيم .

* تقدير الأوكساميل بالكروماتوجرافى الغازى بعد اشتقاقه الى داى نيترو فينيل ميثيل امين .

* اتجاه تحليلى جديد للنبات واستخلاص وتقدير متبقيات البينوميل والكاربندازيم فى اوراق اشجار التفاح بدون تنقية .

* طريقة الكروماتوجرافى السائل عالى الكفاءة للتقدير التلقائي للبينوميل والكاربندازيم فى وسط مائى .



التقـــدم في طــرق التنقيــة والاشــتقاق لتحليــل متبقيــات مبيـــدات الآفـــات

Progress in clean-up and derivatization techniques for pesticide residue analysis

طريقة التنقية السريعة لتحليل متبقيات الأوكساميل فى درنات البطاطا قد تطورت مع إستخدام كبسولات SEP-PAK Florisil Cartidges . وطريقة التنقية الاخرى التى تطورت باستخدام الفصل الكروماتوجرافى الغازى (GC) لتقدير متبقيات الالديكارب (التيميك) ونواتج تأكسده السامة فى اوراق الكريزانثيم مع استخدام عمود من ماصة معبأة بـ ٠,٢ جم من Nuchar – Attaclay . وطريقة الفصل الكروماتوجرافى الغازى المستخدمة لتقدير متبقيات الاوكساميل بعد اشتقاقه الى (داى نيتروفينيل ميثيل أمين) dinitro phenylmethylamine . وطريقة وحيدة بدون استخدام تنقية تستخدم للتحليل الفردى لمتبقيات البينوميل ومادة هدمه (carbendazin) فى اوراق التفاح بالطور العادى للـ HPLC . وفى طريقة اخرى يشتق البينوميل فى وسط مائى الى STB بينما مرافق الكاربيندازيم (co- carbendazim) الموجود يظل بدون تغير وحينئذ يقدر كل منهما منفردا بالطور المنعكس للـ HPLC (للكروماتوجرافى السائل عالى الكفاءة) ومع ذلك تشتق وتتحول متبقيات البينوميل والكاربندازيم فى التفاح الى BBU ، AB - 2 على التوالى ، وتقدر بالطور المنعكس للـ HPLC . وفى عمود التنقية يتم تحليل الالديكارب واثنين من مركباته المؤكسدة فى التربة بواسطة الكروماتوجرافى السائل عالى الفاعلية مع استخدام عمود الفصل الحجمى .

مقدمـــة Introduction :

تعتبر التنقية خطوة متطورة للتقدير الدقيق لمتبقيات مبيدات الآفات . حيث ان كثير من الطرق التقليدية تكون مكلفة ماديا ومضيعة للوقت (تستغرق وقتا طويلا) . وهى على ذلك غير عملية . وبالتالى نأمل الحصول على طريقة للتنقية تكون مفيدة بوجه عام وبسيطة فى نفس الوقت لأن خواص التحليل تختلف اختلافات غير معلومة وطبيعة الشوائب وامكانية ازالتها معقدة جدا .. وطرق التنقية المألوفة الاستخدام تشمل :

1 - Liquid - Liquid partitioning
2 - Open column chromatography.
3 - thin layer chromatography
4 - distillation and low temperature precipitation

هناك عدة اتجاهات جديدة وناجحة مستخدمة فى طرق البحث الحديثة تستخدم اعمدة صغيرة قد تكون اكثر شهرة ووضوحا .

تستخدم الاشتقاق (عملية الاشتقاق Derivatization) مرارا وتكرارا فى تحليل المتبقيات وذلك لتغير خواص التحليل حيث ان منتجات الاشتقاق (المنتجات المشتقة) تكون اكثر ملائمة

لنظم التحليل المتخصصة خاصة طريقة الفصل الكروماتوجرافى الغازى (GC) وطريقة الفصل الكروماتوجرافى السائل العالى الكفاءة (HPLC) حيث ان اهم الخصائص فى هذه الطرق تكون متغيرة ، وحساسة ، واختيارية .. ولتحسين الحساسية والاختيارية فان تقدما اكثر وضوحا يتم عمله فى عمود الاشتقاق (Post - column derivatization) على انظمة الكرماتوجرافى السائل عالى الصلاحية (HPLC) . وان اعظم تقدم فى هذا الاتجاه هو تبسيط الاحتياجات ولوازم التنقية .

يوجد اتجاه واضح فى نطاق التنقية والاشتقاق لتسهيل وتبسيط اجراءات التنقية بالانتفاع بكلا المواد (المادة ومشتقاتها) وفهم وادراك وسائل التنقية والاشتقاق بحكمة . وفى هذه المقالة عدة امثلة لطرق جديدة اكثر نجاحا واستخداما فى معاملنا المتخصصة لتحليل متبقيات مبيدات الآفات . هذه الامثلة تشمل طرق التنقية البسيطة وطرق الاشتقاق ، والاتجاهات الحديثة اللازمة لاتمام عملية التنقية .. وقد بذل جهد وافر فى هذه الدراسات لتطوير الطرق المستخدمة لتقدير المركبات الاساسية (Parent compounds) يفضلها بوضوح عن مركبات هدمها الطبيعية .

التنقية المبسطة والكرماتوجرافى السائل لتقدير متبقيات الاوكساميل فى درنات البطاطا :

تستخلص عينة البطاطا بالميثانول ، ويجفف المستخلص بكبريتات الصوديوم ١٠ ٪ ثم توضع فى مقسم او مجزئ تلقائيا (داى كلوروميثان) . ٤ مل مجزئ (مقسم) من مستخلص الداى كلوروميثان بعد التركيز (٢ جم بطاطا) فتمرر خلال جهاز (SEP-PAK Florisil cartridge) . وتتم الازاحة ب ٤ مل ميثانول + داى كلوروميثان (بنسبة ١ : ٩) . وبعد التطاير بالمزاح يعاد اعادة ذوبان المتبقى فى الماء (٢ جم بطاطا/١ مل ماء) . ويتم تقدير الكروماتوجرافى السائل (LC) باستخدام (Zorbax PSM 60) لتعبئة عمود الطرد الحجمى Size exclusion column مع اسيتونيتريل + ماء (بنسبة ١ : ٩) الطور المتحرك كاشف الاشعة الفوق بنفسجية فى ٢٥٤ ميكرومتر . والنتيجة انه ليس هناك مواد متداخلة وان اقل تركيز يمكن الكشف عنه للأوكساميل كان ٠,٠١ ميكروجرام اوكساميل /١ جم بطاطا .

طريقة بسيطة وفعالة للتنقية والتحليل الكروماتوجرافى الغازى الشعرى لمتبقيات الالديكارب ونواتج تأكسده فى اوراق الكريزانثيم :

استخلصت عينة الاوراق بالميثانول ونقيت المستخلصات باستخدام اعمدة تحتوى على ٠,٠٢ جم من مادة (Nuchar - attaclay) على قمة وسادة من الصوف الزجاجى فى ماصة (٢ مل) من مجزئ مستخلص الميثانول (٠,٢٤ جم اوراق) مررت خلال العمود . وتحليل المزاح مع اضافة ١ مل ميثانول . ثم بعد تطاير الميثانول يعاد ذوبان المتبقى فى خلات الايثيل acetate ethyl . والمحلول حينئذ يكون جاهزا للتقدير بالكروماتوجرافى الغازى الشعرى مع حقن (splitless) وكشف متخصص لتعديل التيار . الالديكارب والالديكارب سلفوكسيد والالديكارب سلفون يعاد ذوبانها جميعا ثم يقدر كل مركب على حدة بحقن ١ ميكروليتر .

تقدير الاوكساميل بالكروماتوجرافى الغازى بعد اشتقاقه الى داى نيتروفينيل ميثيل امين :

بعد التحليل المائى القلوى للاوكساميل يشتق الى داى نيتروفينيل ميثيل أمين (DNPMA) ويقدر بالكروماتوجرافى الغازى مع الكاشف الماسك (الآسر) للالكترون . ويتم التحليل المائى فى درجة حموضة ١٢ ، وحرارة ٨٠ م لمدة ١٠ دقائق مما يحرر مجموعة الميثيل أمين والتى تتفاعل مع داى نيتروفلوروبنزين فى درحة حرارة ٨٠ م لمدة ١٠ دقائق ايضا وبالتالى تعطى (DNPMA) كمحصلة للتفاعل . والعمود المستخدم طوله يكون ١,٨ متر وقطره ٢,٥ م ويعبأ العمود الزجاجى بـ ٣ ٪ من XE - 60 على كروم غازى ٨٠/١٠٠ mesh .

بهذه الطريقة يمكن تقدير الاوكساميل بدون تداخل من اوكزيماته المقابلة (المتناظرة) والتى من المعروف عنها انها مركبات هدم غير سامة للاوكساميل وموجودة بالضرورة فى كل العينات المعاملة بالاوكساميل .. والمتبقى الحقيقى للاوكساميل فى اوراق التبغ (الدخان) والاراضى عند تحليلها كانت اقل مستوى من ٠,١ جزء فى المليون .

اتجاه تحليلى جديد لثبات واستخلاص وتقدير متبقيات البينوميل والكربندازيم فى اوراق اشجار التفاح بدون تنقية :

توضع عينات الاوراق فى وعاء مجففة بالتبريد ثم تخلط او تقلب لعمل المستخلص فى كلوروفورم يحتوى على ٥٠٠٠ ميكروجرام من n - propyl isocyanate (PIC) ١/ مل فى درجة حرارة ١ م ، وتضاف ٥٠٠٠ ميكروجرام من ن – بيوتيل ايزوسيانيد (BIC) ١/ مل الى المستخلص ، ثم تحقن من هذا الخليط او المزيج ٢٠ ميكروليتر الى نظام الكروماتوجرافى السائل العالى الصلاحية . حيث تتحول متبقيات الكاربندازيم التى تذوب بصعوبة فى الكلوروفورم الى ١ – (– ن – بروبيل كاربامول) – ٢ – بنزيميد ازول كاربامات MBC - PIC خلال الاستخلاص .

MBC - PIC مع البينوميل تستخلص اسهل فى الكلوروفورم عند ١ م غير انه فى هذه الدرجة من الحرارة يكون هدم البينوميل غير واضحا ولذلك فان اضافة BIC تكون مهمة جداً بعد الاستخلاص للكروماتوجرافى السائل عالى الصلاحية (HPLC) وذلك لمنع تحليل وهدم البنوميل فى غرفة حرارية . واستخدم الوسط العادى للـ (HPLC) مع مزيج الوسط المتحرك (كلوروفورم + هكسان بنسبة ٤ : ١) المشبع بالماء مع كاشفة الاشعة فوق البنفسجية (UV detection) فى ٢٨٠ نانوميتر . وعدم التنقية هنا مهم نظرا لأن كمية صغيرة فقط من الشوائب هى التى إستخلصت مع الكلوروفورم فى ١ م .

MBC ($C - NH - C(=O) - OCH_3$) + $O=C=N-C_3H_7$ (PIC) ⟶ MBC - PIC

طريقة الكروماتوجرافى السائل عالى الكفاءة للتقدير التلقائى للبينوميل والكاربندازيم فى وسط مائى :

من المحال التقدير الدقيق المضبوط او التقدير الفردى لتركيزات البينوميل الصحيحة وكذلك تركيزات الكاربندازيم فى المحاليل . وذلك لأن البينوميل يتحلل الى كاربندازيم . بالإضافة الى ان التحليل الدقيق والفردى لكلا المركبين بالكروماتوجرافى السائل عالى الكفاءة (HPLC) غير عملى لأن الاختلاف بين المركبين فى القطبية واسعا .

وفى هذه الطريقة يقدر البينوميل فى وسط مائى حيث يتحول خلال ٢٠ دقيقة الى ٣ – بيوتيل – ١ – ٢ ، ٤ داى اوكسو – س – تراى ازينو (١ و ٢ – ٩) بنزيميدازول .

مع هيدروكسيد الصوديوم عند حموضة ١٣ وتقدر كـ (STB) . وعلى النقيض من ذلك فان الكاربندازيم يكون موجودا فى كل العينات المعاملة بالبينوميل ويكون عدم التأثر بهذه المعاملة القلوية ويقدر ككاربندازيم .. وعموما فان كلا من الـ (STB) والكاربندازيم يقدران فرديا بالطور المنعكس للـ (HPLC) . والـ (STB) المتكون حينئذ تكون ثابتة ويكون تحللها من الكاربندازيم اسهل وامثل مع مخاليط الطور المتحرك والمتكونة من اسيتونيتريل ووسط مائى عند حموضة (7PH) وذلك للاختلافات النسبة بينهم . وتطبق هذه الطريقة لكل العينات المائية المشتملة على مخاليط الرش والمياه فى البيئة . واقل تقدير امكن الحصول عليه هو ٠,٠٥ ميكروجرام/١ مل مع ٥٠ ميكروليتر من المحقون .

الفصـــل التـاســع

– طرق تحليل مخلفات المبيدات :

Methods of analysis for pesticide residues

١ – مقدمـــة Introduction

* المجال والهدف Scope
* معايير إختيار طرق التحليل Criteria for the selection of analytical methods
* الاختبارات التأكيدية Confirmatory tests
* استخدام طرق التحليل Application of methods

٢ – قائمة طرق التحليل List of methods of analysis

٣ – قائمة المراجع References

* الدوريات manuals
* المراجع المنشورة Literature

– خطوات التحليل المناسبة Suitable procedures

* قائمة المراجع



طـــرق تحليـــل مخلفـــات المبيـــدات

Methods of analysis for pesticide residues

(أ) توصيات لجنة الدستور – المجموعة المسئولة عن طرق تحليل المخلفات :

١ – مقدمــــــة Introduction :

١٠١ – المجال والهدف Scope :

فى هذا التقرير وضعت التوصيات الخاصة بطرق التحليل والتى يمكن استخدامها لتقدير مخلفات المبيدات للأغراض الرقابية تبعا لخبرات مجموعة العمل وكذا توصيات CCPR . ويتضمن الجدول التالى المبيدات التى ما زالت تحت المناقشة من قبل لجنة الدستور Codes MRL'S . هذه القائمة لا تعالج الموضوع معالجة كاملة والطرق الغير مذكورة فى الجداول يمكن ان تستخدم كذلك فى التحليل تحت بعض الظروف .

٢٠١ – معايير اختيار طرق التحليل

Criteria for the selection of analytical methods

كلما كان ممكنا استعملت اللجان ومجموعة العمل المعاييـــر التالية عند اختيار طرق التحليل :

أ – تكون منشورة فى مراجع متاحة ومعروفة Open literature .

ب – تم دراستها بالتعاون بين المعامل المختلفة أو معروف صلاحيتها فى عدد من المعامل مع التسليم بصلاحية البيانات المنشورة عن هذه الطرق .

حـ – تكون الطريقة قادرة على الكشف عن اكثر من مركب واحد اى طريقة لتقدير متعدد المخلفات .

د – مناسبة للكشف عن المخلفات فى اكثر من سلعة وعند حدود اقل من المستوى الاقصى للمخلفات MRL's .

هـ – تصلح للتطبيق فى المعامل المسئولة عن التحليل الروتينى للمخلفات والمجهزة بالاجهزة الروتينية للتحليل .

وبالاضافة الى ذلك تعطى الافضلية للطرق التى تعتمد على اجهزة الكروماتوجرافى الغازى – السائل Gas liquid chromatography . ومن الطبيعى ان تتضمن الطرق الاسيكتروفوتومترية والكروماتوجرافى ذى الالواح الرقيقة TLC وكذلك الكروماتوجرافى فائق المقدرة السائل HPLC كما ان الطرق الخاصة بقياس الكتلة MASS SPECTROMETRY تستخدم لأغراض التأكيد .

٣٠١ – الاختبارات التأكيدية Confirmatory tests :

فى العمود الاخير من الجداول مدونة طرق الكشف التأكيدية . يعتبر تأكيد تواجد المخلفات التى تم الكشف عنها بالطرق الموصى بها أمرا ضروريا فى مجال طرق التحليل العملية الجيدة (GAP) خاصة اذا اوضحت النتائج الاولية وجود مستوى مخلفات اعلى من الحدود القصوى المسموح بها MRL's . ويعتمد اختبار طرق التحليل التأكيدية على التكنيك المستخدم فى التقدير الأولى ومدى توافر الاجهزة والخبرات اللازمة لاجراء هذه الاختبارات .

٤٠١ – استخدام طرق التحليل Application of methods :

بالرغم من ان طرق التحليل المدونة فى الجداول قد اختيرت بعناية الا ان هناك دائما للقائم بالتحليل التأكد من صلاحية الطريقة قبل ان يقرر استخدامها فى الناحية العملية فى برامج التحليل المسئول عنها . وهناك حاجة مستمرة لتقييم كفاءة هذه الطرق فى الكشف عن المخلفات فى حدود MRL's أو الحدود الأقل من ذلك . والطرق الموجودة فى الجداول موصى بها فقط للكشف عن المخلفات على السلع الموجودة فى اصل الطريقة كما يوضحها المرجع المنشورة فيه . ومن المفهوم ان هذه الطرق تصلح كذلك للكشف عن مخلفات المبيدات على سلع اخرى اذا اتبعت خطوات التحليل الجيدة .

٢ – قائمة طرق التحليل List of methods of analysis :

تتضمن الجداول فى العمود الاول اسم المركب والرقم المعطى له من قبل لجنة دستور مخلفات المبيدات CCPR بين قوسين (--) وهذا يمكن الوصول اليه بالاتصال المباشر بهذه الهيئة . أما العمود الثانى يتضمن الطرق الموصى بها واماكن نشرها وهى اما فى الدوريات Manuals أو فى قائمة المراجع (٣ –) . ويتضمن العمود الثالث بعض الطرق الاخرى للكشف

عن مخلفات المبيدات المعينة والمدرجة فى الجداول ويمكن للقارئ الاهتداء اليها بنفس الطريقة فى العمود الثانى من خلال الرجوع للدوريات والمراجع (٣) . والعمود الرابع يتناول طرق الاختبارات التأكيدية ويمكن الحصول عليها بنفس الاسلوب فى العمودين الثانى والثالث . ومن الافضل ان تترك كما هى باللغة الانجليزية لأن ترجمتها للعربية مستحيل لأنه سيفقدها جوهرها وقيمتها وسأشير فقط الى عناوين الاعمدة الاربعة باللغة الانجليزية وقد سبق ترجمتها للعربية فى اعلاه .

* العمود الأول : Compound (CCPR - number in parentheses)
* العمود الثانى : Collaboratively checked or otherwise assessed methods
* العمود الثالث : Other analytical methods
* العمود الرابع : Confirmatory tests

2. LIST OF METHODS OF ANALYSIS قائمة طرق التحليل

Compound (CCLPR-number in parentheses)	collaboratively checked or otherwise assessed methods	other analytical methods	confirmatory tests
acephate	2c. 2d	Leary Richmond	2 c
aldrin/dieldrin (1)	1a, 2a, 2d, 3a, 4 (S1-5, S8-10, S12) Greve (2) Holmes Mestres (1, 4) Panel (4) Telling	5 Porter Sissons Specht	2f. 3b . 4a Abbott (2) Mestres (5)
amitrole (79)	none	2e, 4 (4) Loke	none
azinphos-methyl (2)	2c, 2d, 3a, 4 (S5, S8) Abbott (1) Panel (3) Mestres (1) Mestres (5)	2e, 4 (63) Bowman (1) Eichner Krause	2f Cochrane (3) ernst (1) Mendoza (1)

binapacryl (3)	2a, 3a	4 (8, 43) Baker (3) Specht	Baker (3)
bromophos (4)	2a, 2d, 4 (S5, S8-10, S13, S17) Abbott (1) Mestres (1) Working Group	4 (210) Krause Specht	Ernst (1) Mestres (5)
bromophos-ethyl (5)	2a, 2d , 3a, 4 (S13, S17) Abbott (1) Mestres (1)	4 (263) Specht	Ernst (1) Mestres (5)
bromopropylate(70)	2a	Stijve (1)	Stijve (1)
sec-butylamine(89)	none	2e Baker Day	none
captafol (6)	2d Mestres (1)	Baker (2) eichner	Pomerantz (1) Kilgore (2) Pomerantz (2) Specht Zweig (4)
captan (7)	1g, 2a, 2d , 3a, 4 (S8, S12) Mestres (1)	4 (12), 5 Baker (2) Kilgore (1) Pomerantz (2) Specht	3 b Pomerantz (1)
carbaryl (8)	1e , 1h , 2d , 3a Mestres (6)	4 (100) Cohen Lawrence (2)	2f Cochrane (3) Ernst (1)

			Mendoza(1, 2)
carbofurran (96)	1e, 3a	2e Lawrence (2) Moellhoff (2)	2e , 2f Cochrane (3) Mendoza (2)
carbophenothion (11)	1c , 2c, 2d, 3d 3a , 4 (S8, S10, S13, S16)	2e Bowman (1) Specht	2f Ernst (1) Mestres (5)
cartap (97)	none	official Gazette Zweig (1)	none
chinomethionate (80)	2d	4 (189) Tjan (1)	2e Francoeur Mestres (1)
chlordane (12)	2a , 2d , 3a , 4 (S9, S10, S12) Mestres (1)	5 Cochrane (2) Specht	2f , 3 b Chau (1) Mestres (5)
chlordimeform (13)	none	2e Zweig (1)	zweig (1)
chlorfenviphos (14)	2d, 3a , 4 (S13, S17) Abbott (1) Mestres (1)	2c, 4 (239) Krause Specht	2f Ernst (1) Mestres (5)
chlormequat (15)	none	Mooney Nierle Sachse Stijve (2) Zweig (1)	Tafduri (1, 2)
chlorobenzilate (16)	2a , 3a Mestres (1)	Fromica	Mestres (5)

chlorothalonil (81)	2a, 2d , 3a	Zweig (2)	none
chlorpyrifos (17)	2a, 2c , 2d, 3a, 4 (S9, S13) Mestres (1,6)	5 Bowman (1) Braun (1) Specht	2f Ernst (1) Mestres (5)
chlorpyrifos-methyl (90)	2c , 2d Mestres (6)	Desmarchelier	none
crufomate (19)	none	2e Bowman (1)	2f Greenhalgh (1,2)
cyanofenphos (91)	none	Takimoto (2)	none
cyhexatin (67)	none	2e Gauer Moellhoff (3) Love Zweig (1)	2e
2, 4-D (20)	2b, 3a	4 (27) , 5 Allebone Bjerke Clark Dupuy Meagher	2f Cochrane (3) Mestres (5) Suffet
DDT (21)	1a, 2a, 2d, 3a, 4 (S1-5, S8-10), S12) Greve (2) Holmes Mestres (1, 4) Panel (4) Telling	4 (30), 5 Porter Sissons Specht	2f , 3b Abbott (2) Chau (1) Mestres (5)
demeton (92)	2c ,2d,4 (S5,S16) abbott (1)	none	2f Ernst (1)
demeton-s-methyl (73)	2c,2d. 4 (S5,S13, S16)	Krause Thornton (2)	2f Ernst (1)

	Abbott (1)	Vandermerwe Wagner (2)	
dialifos (98)	2a, 2d	4 (281) Westlake	Ernst (1)
diazinon (22)	1a, 2a, 2c, 2d 3a, 4 (S5, S8, S10, S13, 517) Abbott (1) Mestres (1) Working Group	4 (35) Bowman (1) Krause Machin Specht	2f Ernst (1) Mendoza (1, 2) Mestres (5) Singh
dischlofluanid (82)	4 (S8, S12)	4 (203) Specht	Mestres (5)
dicloran (83)	2a, 2d, 3a	DeVos	none
dichlorvos(25)	2c, 2d, 3a, 4 (S5, S13, S17) Abbott (1) Panel (1, 3) Mestres (1,6)	4 (200) Dale Draeger (1) Elgar Krause	2f Cochrane (3) Ernst (1) Mendoza (2) Mestres (5)
dicofol (26)	2a, 2d, 3a, 4 (S9 , S12) Mestres (1) Telling	4 (69) Morgan Specht	2f
dimethaote (27)	2c, 2d, 3a, 4 (S5, S8, S13, S17) Abbott (1) Mestres (1) Panel (3) Working Group	4 (42, 236), 5 Krause Specht Steller Wagner (1)	2f Greenhalgh (2) Mestres (5)
dioxathion (28)	2c , 2d , 4 (S8, S13)	none	Ernst (1)

	Abbott (1)		
diphenyl (29)	1f , 2d Mestres (3)	4 (256) Farrow Pyysalo	Beernaert
diphenylamine (30)	none	2e Allen Gutenmann Luke	none
diquat (31)	none	2e , 4 (37) Calderbank (2) Zweig (4)	King
disulfoton (74)	2a, 2e, 2d, 3a, 4 (S5, S8, S13, S16, S17) Abbott (1) working Group	2e Bowman (2) Specht Thornton (1)	2e, ef Mendoza (1) Mestres (5)
dithiocarbamates (105)	3a, 4 (S15) Keppel Mestres (7)	2e Mc Leod Ripley (1) Rosenberg	none
dodine (84)	1i, 2e	Newsome	none
edifenphos (99)	none	Vogeler	none
Endosulfan (32)	1b, 2a, 2d, 3a, 4 (S5, S8, S12) Mestres (1) Teeling	4 (50), 5 Porter Sissons Specht	2f, 3b Abbott (2) Chau (2) Cochrane (3) Greve (1) Mestres (5) Musial Putnam

endrin (33)	1a, 2a, 2d, 3a, 4 (S5, S9-10, S12) Holmes Mestres (1, 4) Panel (4) Telling	5 Sissons Specht	2f, 3b Abbott (2) Chau (3, 4) Mestres (5) Musial
ethiofencarb (107)	none	4 (393) Draeger (2)	none
ethion (34)	1a, 2a, 2c, 2d 3a, 4 Abbott (1) Mestres (1)	Bowman (1) Ivey Specht	2f Ernst (1) Mendoza (1,2) Mestres (5)
ethoxyquin (35)	none	2e, 4 (500) Ernst (2) Winell	Weilenmann
fenamiphos (85)	2d, 4 (S15)	Thornton (3)	none
fenbutatin oxide (109)	none	Zweig (4)	none
fenchlorphos	1a, 2a, 2c, 2d, 3a, 4 (S8-10, S13, S17) Abbott (1) mestres (1)	specht	2f Ernst (1) Meseres (5) Singh
fenitrothion	2a, 2c, 2d, 3a, 4 (S5, S8, S13d, S17) Abott (1) Mestres (1) Working Group	4 (58) Desmarchelier Krause Specht Takimoto (1)	2f Ernst (1) Mestres (5) Singh
fensulfothion (38)	2c, 2d, 3a, 4 (S13, S16, S17)	bowman (3) Williams Zweig (1)	none

Fenthion (39)	2a, 2c, 2d, 3a, 4 (S5, S8, S13, S16, S17) Abbott (1) Mestres (1)	2e Bowman (2) Krause Wright	2f Ernst (1)
fentin (4)	none	2e, 4 (55)	2e
ferbam (105)	see dithiocarbamates		
folpet (41)	2a, 2d, 3a, 4 (S8, S12) Mestres (1)	4 (91) Baker (2) Pomerantz (2)	Pomerantz (1)
formothion (42)	2c, 2d, 4 S5, S8) Abbott (1) Mestres (1)	4 (236) Specht Zweig (2)	Ernst (1) Mestres (5)
guazatine (114)	none	kobayashi	none
heptachlor (43)	1a, 2a, 2b, 2d, 3a, 4 (S1-4, S8-10, S12) Greve (2) Holmes Mestres (1, 4) Telling	5 eichner Porter Sissons Specht	2f, 3b Abbott (2) Chau (1, 4) cochrane (3) Mestres (5) Musial Ward
hydrogen cyanide (45)	none	2e, 4 (11) Heuser (1) Jaulmes	none
hydrogen phosphide (46)	none	2e, 4 (13) burce Greve (4)	robison
imazalil (110)	none	Greenberg Norman Specht Wijnants	none

inorganic bromide (47)	Greve (3) Panel (12	2e Heuser (2)	none
lprodione (111)	Mestres (1)	4 (419) Zweig (5)	none
liadane (48)	1a, 2a, 2d, 3a , 4 (S1-5, S8-10, S12) Greve (2) Holmes mestres (1, 4, 6) Panel (5) Telling	4 (70), 5 DeVos Porter Sissons Specht	Abbott (2) Cochrane (1) Mestres (5)
malathion (49)	1a, 2a, 2c , 2d , 3a, 4 (S5,S8,S10,S13,S17) Abbott (1) Mestres (1, 6) Panel (1, 3) Working Group	4 (72) 2f Bowman (1) Desmarchelier krause Specht	Cochrane(1) Ernst (1) Mendoza (1, 2) Mestres (5) singh
mancozeb (5)	see dithiocarbamates		
maneb (105)	see dithiocarbamates		
methamidophos (100)	2c , 2d, 3a	4 (365) , 5 Leary Lubkowitz Moellhoff (1) Specht	none
methidathion (51)	2a, 2c, 2d, 3a, 4 (S5, S13)	2e, 4 (232) Krause Leary Specht Zweig (2)	Ernst (1) Mestres (5)

mevinphos (53)	2c, 2d, 3a, 4 (S5, S8, S13, S17) Abbott (1) Mestres (1) Mestres (5)	4 (93) krause Specht	2 f Cochrane (3) Ernst (1) Mendoza (1)
monocrotophos	2c, 2d	2e Lawrence(1)	2f Ernst (1) Lawrence (1) Mestres (5)
Omethoate (55)	2c , 2 d , 4 (S13, S17) Abbott (1) panel (3)	4 (236), 5 Specht Steller Wagner (1)	Ernst (1) Mestres (1)
ortho-phenyl- phenol (56)	2d Mestres (3)	4 (256) Farrow Pyysalo	Beernaert Cochrane(3) Nose
paraquat (57)	none	2e, 4 (134) Calderbank (1) Khan Lott Zweig (4)	Cochrane (3)
parathion (58)	1a, 1c, 2a, 2c, 2d, 3sa, 4 (S5,S8, S10,S13,S17) Abbot (1) Mestres (1) Panel (3)	4 (87) bowman (1) Krause Specht	2f Cochrane (3) Ernst (1) Mendoza (1, 2) Mestres (5) Singh
parathion- methyl (59)	1a, 2a, 2c, 2d, 3a, 4 (S5, S8, S13, S17) Abbott (1) Mestres (1)	4 (88) bowman (1) Krause Specht	2f Cochrane (3) Mendoza (1, 2) Mestres (5) Singh

phosalone (60)	2a, 2c , 2d, 3a Abbott (1) Mestres (1)	5 Eichner Specht Zweig (1)	Ernst (1) Mestres (5)
phosmet (103)	2c, 2d Mestres (1)	bowman (1,4)	none
phosphamidon	2c, 2d, 3a, 4 (S5, S13) Abbott (1) Mestres (1)	Voss	Mestres (5)
piperonyl butoxide (62)	none	11, 2e, 4 (163) Isshiki Munday Specht	none
pirmicarb (101)	none	5 Zweig (1)	Mestres (8)
pirimiphos-methyl (86)	Mestres (1, 6) working Group	Brealey Desmarchelier Zweig (2)	Mestres (6)
propargite (113)	2d , 3a	2e Devinel (1,2) Zweig (1)	none
propineb (105)	see dithiocarbamates		
propoxur (75)	1e	4 (216) Cohen lawrence (2) Specht Stanley Zweig (1)	Cochrane (3) Ernst (1) Mendoza (2)

pyrethrins (63)	mestres (6)	2e	none Specht
quintozene (64)	2a, 2d, 3a , 4 (S8, S9, S12) Mestres (1)	4 (99) Baker (1) DeVos Goursaud Specht	2f Baker (1) Mestres (5)
tecnazene (115)	2a, 4 (S8, S12)	4 (108) DeVos Specht	none
thiabendazole (65)	2d Mestres (2b)	4 (256) aharonson Farrow Gorbach Maeda Rajzman Tjan (2)	Tanaka Wegman
thioneton (76)	2c, 2d, 4 (S13) Abbott (1)	Zweig (2)	Ernst (1)
Thiophanate-methyl (77)	Mestres (2a)	2e, 5 Engst Gnaegi Gorbach Shiga	Wegman
thirman (105)	see dithiocarbamates		
trichlorfon (66)	2d, 3a, 4 (S5, S13) Abbott (1) Mestres (1) Mestres (5)	2e, 4 (112), 5	2f Cochrane (3) Ernst (1)
triforine (116)	none	4 (338) Zweig (4)	none
zineb (105)	see dithiocarbamates		
ziram (105)	see dithiocarbamates		

٣ – قائمة المراجع : REFERENCES

١٠٣ – الدوريات : 3.1 Manuals

(1) Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 13th edition (1980); of also McMahon, B. and Burke, J.A., JAOAC, 61, 640-652 (1978).

(a) 29.001-20.018l - Multiresidue methods for chlorinated and certain organophosphorus pesticides.

(b) 29.029-29.034 - Alternate elution system for endosulfan.

(c) 29.029-29.043 - Organophosphorus pesticides, "Storherr" multiresidue method.

(d) 29.056-29.057 - Fumigants, multiresidue method.

(e) 29.058-29.063 - Carbamates, "Holden" multiresidue method.

(f) 29.067-29.074.

(g) 29.076-29.080

(h) 29.082-29.090

(i) 29.108-29.111

(j) 29.112-29.118

(k) 29.123-29.126

(l) 29.161-29.164

(2) Pesticide Analytical manual, as revised June 1979, Food and Drug Administration, Washington, D.C.

(a) Volume I, Tables 201-A, ;;201-C, and sections 211, 212, 231, 232.1 and 252 Multiresidue methods for chlorinated and organophosphorus pesticides in fatty and non-fatty foods.

(b) Volume 1, Table 201-lD and sections 221 - Chlorophenoxy acids in fatty and non-fatty foods.

(c) Volume 1, Table 201-H and section 232.3 - Stokherr organophosphate/carbon clean-up for non - fatty foods

(d) Volume 1, Table 201-1 and section 232.4 - Luke et al., for various pesticides in non-fatty foods.

(e) Volume II, Method under compound name (when in thes reference several methods have been given, they are generally listed in order of preference).

(f) volume 1, Table 651-A and section 650 and 651 - Confirmatory tests.

(3) Candian manual on Analytical methods for Pesticide Residues in Foods. Information Canada, Ottawa, Canada, Cat. No. H 44-2869-REV (1973).

(a) analytical methos (section 5-8)

(b) confirmatory methods (section 11)

(4) Methodensammlung zur Rueckstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln, 5. Lieferung (1979), Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstrasse, Federal Republic of Germany (the numbers in parentheses refer to the numbers of the methods in this manual).

(5) Laboratory Manual for Pesticide Residue Analysis in Agricultural Products, compiled by the R.B. Maybury, Pesticide laboratory, Food Production and Inspection Branch, Agriculture Canada, Ottawa, Ontario KIA OC5, Canda (1980).

3.2 Literature — ٢٠٣ – المراجع المنشورة :

Abbott (1), D.C. et al., Pestic sci 1, 10-13 (1970).

Abbott (2), D.C. et al., J. Chromatog., 16, 481-487 (1964).

Aharonson, N. and Ben-Aziz, A., JAOAC, 56, 1330-1334 (1973).

Allebone, J. E. and hamilton, R.J., J. Chromatog., 108-188 - 193 (1975)

Baker, H.J., JAOAC, 61, 1001-003 (1978).

Baker (1), P.B. and Flaherty, B., Analyst, 97, 378-382 (1972).

Baker (2), P.B. and Flahertly, B., Analyst, 97, 713-718 (1972).

Baker (3), P.B. and Hoodless, R.A., Analyst, 98, 172-175 (1973).

Beernaert, H. J., Chromatog., 77, 331-338 (1973).

Bjerke, E.L et al., J. Agr. Fd. Chem., 20, 963-967 (1972).

Bong, R.L., JAOAC, 58, 557-561 (1975).

Bowman (1), M.C. and Beroza, M., JAOAC, 50, 1228-1236 (1967).

Bowman (2), M.C. and Beroza, M., JAOAC, 52, 1231-1237 (1969).

Bowman (3), M.C. and Hill, K.R., J. Agr. Fd. Chem., 19, 342-345 (1971)

Bowman (4), M.C. and Beroza, M., JAOAC, 49, 1154-11 (1966).

Braun, H.E., JAOAC, 57, 182-188 (1974).

Brealey, C.J. et al., J. Chromatog., 168, 461-469 (1979).

Bruce, R.B. et al., J. Agr. Rd. Chem., 10, 18-25 (1962).

Calderbank (1), A. and Yuen, S. H., Analyst, 90, 99-106 d(1965).

Calderbank (2), A. and Yuen, S. H., Analyst, 91, 625-629 (1966).

Chau (1), A.S.Y. and Lanouette, M., JAOAC, 55, 1058-1066 (1972).

Chau (2), A.S.Y., JAOAC, 55, 1232-1238 (1972).

Chau (3), A.S.Y. Bull. Envir. Cont. tox., 8, 169-176 (1972).

Chau (4), A.S.Y., JAOAC, 57, 585-591 (1974).

Clark, D.E. et al., J. Agr. Fd. Chem., 23, 573-578 (1975).

Cochrane (1), W.P. and Maybury, R.B., JAOAC, 56, 1324-1329 (1973).

Cochrane (2), W.P. et al., JAOAC, 58, 1051-1061 (1975).

Cochrane (3), W.P. J. Chromat. Sci., 17, 124-137 (1979).

Cohen, I.C. et al., J. Chromatog., 49, 215-221 (1970).

Dale, W.E. et al., J. Agr. Fd. Chem., 21, 858-860 (1973).

Day, E. V. et al., JAOAC, 51, 39-44 (1968).

Desmarchelier, J. et al., Pestic. Sci., 8, 473-483 (1977).

Devine (1), J.M. and Sisken, H.R., J. Agr. Fd. Chem., 20, 59-61 (1972).

Davine (2), J. M., J. Agr. Fd. Chem., 23, 598-599 (1975).

DeVos, R. H. et al., J. Chromatog., 93, 91-98 (1974).

Draeger (1), G. Pflanzensch. Machr. Bayer, 21, 377-384 (1968).

Draeger (2), G. Pflanzensch. Machr. Bayer, 27, 144-155 (1974).

Dupuy, A.E. et al., J. Agr. Fd. Chem., 23, 827-828 (1975).

Eichner, M., Z. Lebansm. Unters. Forsch., 167, 245-249 (1978).

Elgar, K.E. et al., Analyst, 95, 875-878 (1970).

Ernst (1), G.F. et al., J. Chromatog., 133, 245-251 (1977).

Ernst (2) , G.F. and Verveld-Roeder, S.Y., J. Chromatog., 269-271 (1979).

Farrow, J.E. et al., Analyst, 102, 752-758 (1977).

Formica, C., Meded. Fac. Landb. Gent., 40, 1135-1148 (1975).

Francoeur, Y. mallet, V., JAOAC, 59, 172-173 (1976).

Francoeur, Y. and Mallet, V., JAOAC, 59, 172-173 (1976).

Gauer, W.O. et al., J. Agr. Ed. Chem., 22, 252-254 (1974).

Gnaegi, F. et al., Trav. Soc. Pharm. Montpellier, 34, 91-100 (1974).

Gorbach, S., Pure Appl. Chem., 52, 2569-2590 (1980).

Goursaud, J. et al., Ann. Fals. Expert. Chem., 69, 327-336 (1976).

Greenberg, R. and Resnick, C., Pest. Sci., 8, 59-64 (1977).

Greenhalgh (1), R. et al., Bull. Envir. Cont. Tox., 7, 237-242 (1972).

Greenhalgh (2), R. and kovacicova, J., J. Agr. Fd. Chem., 23, 325-329 (1975).

Greve (1), P.A. and Wit, S.L., J. Agr. Fd. Chem., 19 372-374 (1971).

Greve (2), P.A. and Grevenstuk, W.B.F., Meded, Fac. landb. Gent. 40, 1115-1123 (1975).

Greve (3), P.A. and Grevenstuk, W.B.F., Meded, Fac. landb. Gent. 41, 1371-1381 (1979).

Greve (4), P.A. and Hogendoorn, E.A., Meded, Fac. landb. Gent. 44, 877-884 (1979).

Gutenmann, W.H. and Lisk, D. J., J. Agr. Fd. Chem., 11, 468-470 (1963).

Heuser (1), S. G. and Scudamore, K.A., J. Scr. Fd. Agric., 20, 566-572 (1969).

Heuser (2), S. G. and Scudamore, K.A., Pestic. Sci., 1, 244-249 (1970).

Holmes, D.C. and Wood, N.F., J. Chromatog., 67, 173-174 (1972).

Isshiki, K. et al., Bull. Envir. Cont. Tox., 19, 518-523 (1978).

Ivey, M.C. and Mann, H.O., J. Agr. Fd. Chem., 23, 319-321 (1975).

Jaulmes, P. and Mestres, R., Ann. Tecnol. Agric., 11, 249-269 (1962).

Keppel, G.E., JAOAC, 54, 528-532 (1971).

Khan, S. U., Bull. Envir. cont. Tox., 14, 745-749 (1975).

Kilgore (1), W.W. et al., J. Agr. Fd. Chem., 15, 1035-1037 (1967).

Kilgore (2), W.W. and White, E.R., J. Agr. Rd. Chem., 15, 118-1120 (1967).

King, R.R., J. Agr. Fd. Chem., 26, 1460-1463 (1978).

Kobayashi, H. et al., J. Pest. Sci., 2, 427-430 (1977) .

Krause, C. and Kirchhof. S., Deutsch lebensm. Rundsch., 66, 194-199 (1970).

Lawrence (1), J.F. and Mcleod, H.A., JAOAC, 59, 637-640 (1976).

Lawrence (2), J.F. J. Agr. Fd. Chem., 25, 211-212 (1977).

Leary, J., JAOAC, 57, 189-191 (1974).

Lokke, H., J. Chromatog., 200, 234-237 (1980).

Lott, P.E. and Lott, J.W., J. chromat. Sci., 16, 390-395 (1978).

Love, J. L. and Patterson, J.E., JAOAC, 61, 627-628 (1978).

Lubkowitz, J.A. et al., J. Agr. Fd. Chem., 21, 143-144 (1973).

Luke, B.C. and Cossens, S.A., Bull. Envir. Cont. Tox., 24, 746-751 (1980).

Machin, A.F. and Quick, M.P., Analyst, 94, 221-225 (1969).

Maeda, M. and Tsuji, A., J. Chromatog., 120, 449-455 (1976) .

Malone, B., JAOACIII, 52, 800-805 (1969).

McLeod, H.A. and McCully, K.A., JAOAC, 52, 1226-1230 (1069).

Meagher, W.R., J. Agr. Fd. Chem., 14, 374-377 (1966).

Mendoza (1), C.E. et al., analyst, 93, 34-38 (1968).

Mendoza (2), C. E. and Shields, J.B., JAOAC, 54, 507-512 (1971).

Mestres (1), R. et al., Proc. Int. Soc. Citriculture, 2, 426-429 (1977) and Trav. Soc. Pharm. Montpellierd, 39, 323-329 (1979).

Mestres (2a), R. et al., Proc. Int. Soc. Citriculture, 3, 1103-1106 (1977) and Trav. Soc. Pharm. Montpellierd, 38, 81-86 (1978).

Mestres (2b), R. et al., Ann. Fals. Exp. Chim., 67, 585-598 (1974) and 69, 369.370 (1976).

Mestres (3), R. et al., Trav. Soc. Pharm. Montapellier, 35, 87-100 (1975).

Mestres (4), R. et al., Trav. Soc. Pharm. Montapellier, 36, 43-58 (1976).

Mestres (5), R. et al., Ann. Fals. Exp. Chim. 70, 177-188 (1977).

Mestres (6), R. et al., Ann. Fals. Exp. Chim. 72, 577-589 (1979).

Mestres (7), R. et al., Trav. Soc. Pharm. Montapellier, 33, 191-194 (1973).

Mestres (8), R. et al., Trav. Soc. Pharm. Montapellier, 31, 97-103 (1971).

Moellhoff (1) , E. Pflanzensch, Nachr. Bayer, 24, 252-262 (1971).

Moellhoff (2) , E. Pflanzensch, Nachr. Bayer, 28, 370-381 (1975).

Moellhoff (3) , E. Pflanzensch, Nachr. Bayer, 30, 249-263 (1977).

Mooney, R.P. and Pasarela, N.R., J. Agr. Fd. Chem., 15, 989-995 (1967).

Morgan, N.L., bull. Envir. Cont. Tox., 3, 254-258 (1968).

Munday, W.H., JAOAC, 46, 244-245 (1963).

Musial, C. J. et al., Bull. Envir. Cont. Tox., 16, 98-100 (1976).

Newsome, W.H., J. Agr. Ed. Chem., 24, 997-999 (1976).

Nierle, W., Getteide, Mehl u Brot, 27, 48-51 (1973).

Norman, S. L. and Fouse, D. C., JAOAC, 61, 1469-1474 (1978).

Nose, N. et al., J. Chromatog., 125, 439-443 (1976).

Official Gazette, No. 4, Notification issued on March 20, 1979 by the Japan Environment Agency.

Panel (1) on Dichlorvos and Malathion in Grain, Analyst, 98, 19-24 (1973).

Panel (2) on Fumigant Residues of Inorganic Bromide in Grain, Analyst, 101, 386-390 (1976).

Panel (3) on Organophosphorus Residues in Fruits and Vegatables, Analyst, 102, 858-868 (1977).

Panel (4) on Determination of Organochlorine Pesticides in food stuffs on Animal Origin, Analyst, 104, 425-433 (1979).

Pomerantz (1), I.H. and Ross, R., JAOAC, 51, 1058-1062 (1968).

Pomerantz (2), I.H. et al., JAOAC, 53, 154-157 (1970).

Porter, M.L. and Burke, J. A., JAOAC, 56, 733-738 (1973).

Putnam, T.B. et al., Bull. Envir. Cont. Tox., 13, 662-665 (1975).

Pyysalo, H., J. Chromatog., 168, 512-516 (1978).

Rajzman, A., Analyst, 99, 120.127 (1974).

Robinson, W. H. and Hilton, W.H., J. Agr. Fd. Chem., 19, 875-878 (1971).

Rosenberg, C. and Siltanen, H., Bull. Envir. Cont. Tox., 22, 475-478 (1979).

Sachse, J., Z. Lebansm. Unters. Forsch., 163, 274-277 (1977).

Shiga, N. et al., J. Pest. Sci., 2, 27-32 (1977).

Singh, J. and lapointe, M.R., JAOAC, 57, 1285-1287 (1974).

Sissons, D. J. et al., J. Chromatog., 33, 435-449 (1968).

Specht, W. and Tillkes, M., Fresenius Z. Anal. Chem., 301, 300-307 (1950).

Stanley, C.W. et al., J. Agr. Fd. Chem., 20, 1265-1269 and 1269-1273 (1972).

Stein, V.B. and Pittman, K.A., JAOAC, 59, 1994-10.. (1976)

Steller, W.A. and Pasarela, N.R., JAOAC, 55, 1280-1287 (1972).

Stijve (1), T. Deutsche Lebensm. Rundsch., 76, 119-122 (1980).

Stijve (2), T. Deutsche Lebensm. Rundsch., 76, 234-237 (1980).

Suffet, I.H., J. Agr. Fd. Che., 21, 591-598 (1973).

Tafuri (1) , F. et al., Analyst, 95, 675-679 (1970).

Tafuri (2), F. et al., J. Agr. Fd. chem., 18, 869-871 (1970).

Takimoto (1), Y. and Mikyamoto, J., Residue Rev., 60, 84-95 (1976).

Takimoto (2), Y. and Mikyamoto, J., Report CC-50-0001, JMPR 1975.

Tanaka, A. and Fujimoto, Y., J. chromatog., 117, 149-160 (1976).

Telling, G. M. et al., J. Chromatog., 137, 405-423 (1977).

Tjan (1), G. H. and Konter, Th., JAOAC, 54, 1122-1123 (1971).

Tjan (2), G. H. and Jansen, J. Th. A., JAOAC, 62, 769-773 (1979).

Thornton (1), J.S. and Anderson, C.A., J. Agr. Fd. Chem., 16, 895-898 (1968).

Thornton (2), J. et al., J. Agr. Fd. Chem. 25, 573-576 (1977).

Thornton (3), J. S., J. Agr. Fd. Chem., 19, 890-893 (1971).

Vogeler, K., Pflanzensch, nachr. Bayerd, 21, 317-321 (1968).

Voss, G. et al., Residue Rev., 37, 120-132 (1971)

Wagner (1), K. and Frehse, H., Pflanzensch. Nachr. Bayer, 29, 54-66 (1976).

Wagner (2), K. and thorton, J.S., Pflanzensch. Nachr. Bayer, 30, 1-17 (1977).

Ward, kP.M., JAOAC, 60, 673-678 (1977).

Wegman, R.C.C. et al., meded. Fac. Landb. gent., 40, 1077-1084 (1975).

Weilenmann, H.R. et al., Lebansm. Wiss. u. Technol., 5, 106-107 (1972).

Westlake, W.E., et al., J. Agr. Fd. Chem., 19, 1191-1195 (1971).

Wijnants, J., Meded. Fac. Landb. Gent., 44, 913-926 (1976).

Williams, I.H. et al., J. Agr. Fd. Chem., 19, 456-458 (1971).

Winell, B., Analyst, 101, 883-886 (1976).

Working Group of the Committee for Analytical Methods, Analyst, 105, 515-517 (1980).

Wright, F. C. and Riner, J.C., J. Agr. Fd. Chem., 26, 1258-1259 (1978).

Zweig (1), G. (edit.), Analytical Methods for Pesticides, Plant Growth and Food Additives, Academic Press, New York - San Francisco - London, Vol. VII (1974.

Zweig (2), G., idem., Vol VIII (1976).

Zweig (3), G., idem., Vol IX (1977).

Zweig (4), G., idem., Vol X (1978).

Zweig (5), G., idem., Vol XI (1980).

(ب) طرق مبسطة لتحليل مخلفات المبيدات Simplified approaches to residue analysis

بالرغم من ان طرق التحليل الحساسة مطلوبة للبحوث والدراسات الخاصة بتمثيل المبيدات الا ان التخصص ليس ضروريا فى هذه الطرق . وحتى الطرق التى تستخدم لتقدير المخلفات فى العينات الواردة من تجارب المخلفات ليست مطلوب منها ان تتلاءم مع التداخلات التى تحدث من مبيدات اخرى يمكن ان تركز طرق التحليل على الحساسية والتكلفة والسرعة . ومن جهة اخرى فان السرعة فى التحليل وانخفاض التكاليف مطلوبة جدا لأى طريقة تستعمل للكشف عن المخلفات فى المحاصيل المختلفة للتأكد من عدم زيادتها عن الحدود القصوى المحددة رسميا .

وحيث انه ليس معروفا عن المخاطر الصحية عند او حول المستويات القصوى للمخلفات التى حددها الدستور فان الحساسية الغير ضرورية او / والدقة يمكن ان تكون مكلفة ويحتمل ان تسفر عن نتائج غير مؤكدة اجابتها نعم أم لا فى العديد من الحالات . ان الاجهزة المتقدمة والمتطورة جدا تتطلب تيار كهربى ثابت وتوفر مذيبات نقية وكذلك اسطوانات للغازات المطلوبة وخدمات صيانة وتوفر قطع الغيار وهذا يعتبر تكلفة عالية ويعتبر نوعا من الرفاهية فى العمل الروتينى للكشف عن المخلفات .

والآن ... اصبح متوفرا للعديد من الطرق التى تستخدم تكنولوجيات مناسبة تفى بغرض الكشف عن المخلفات ولقد قامت اللجنة الخاصة IUPAC بتجميع ونشر الطرق المتاحة التى يجب ان تحقق الاشتراطات التالية :

١ – ذات تخصص وحساسية ودقة معقولة بالمقارنة بالكروماتوجرافى الغازى (GC) او الكروماتوجرافى السائل (LC) .

٢ – تعطى معلومات واقعية عند الكشف عن المخلفات فى تحديد المركب الاصلى مع اهم المركبات المتحولة والناتجة عن الانهيار .

٣ – تكون قادرة على تقدير المخلفات كميا باستخدام طرق مختلفة مع زيادة التكنولوجيا .

٤ – تكون ذات فائدة فى تحديد المخلفات فى مجال التجارة الدولية للسلع أو فى الغذاء فى داخل البلد المجهول الخلفية عن استخدام المبيدات .

٥ – لا تتطلب الطريقة توفر غازات مضغوطة أو كميات كبيرة من المذيبات أو مذيبات ذات نقاوة غير متوفرة وغير شائعة .

٦ - تستخدم اجهزة غير مكلفة نسبيا بالمقارنة بالـ GC أو LC .

وهذه المتطلبات يمكن ان تتحقق بعدد قليل من الطرق مثل كروماتوجرافى الالواح الرقيقة TLC أو الطرق الاسيكتـرومتـريبية فى مجال الضوء المرئى . وهناك طرق اخرى قد تصلح تحت ظروف معينة .

خطوات التحليل المناسبة Suitable procedures

جميع طرق تحليل مخلفات المبيدات تتضمن الاستخلاص والتنظيف وما يتبع ذلك من خطوات التقدير . وفى كل حالة فان الخطوة الاخيرة تتطلب ضرورة التنقية للمستخلصات وكذلك درجة التنظيف . والطرق المنشورة لا تعنى ان تستخدم فقط فى المجال الذى تناولته ولكن يصبح من المميزات دمج خطوات من طرق مختلفة . وبالاضافة الى ذلك يمكن لبعض طرق التحليل ان تقوم بتحليل مدى اوسع من هذه المخلفات . تعتبر طريقة الكروماتوجرافى ذات الالواح الرقيقة TLC من اكثر الطرق مناسبة للكشف عن مجموعة من المبيدات المختلفة فى التحليل المتعدد وهى بسيطة وسريعة وحساسة وهى ذات تخصص كافى وهى تتساوى ان لم تتفوق على العديد من الطرق الاخرى خاصة فى خطوات التقدير من حيث السرعة والتكاليف (مرجع - ١) . طريقة TLC ذات قيمة خاصة للكشف وتعريف المخلفات بينما التقدير الكمى يكون محدودا . والتطوير الحديث للـ TLC الكمية للمبيدات (مرجع - ٢) وكذلك اتوماتيكية تقدير مخلفات المبيدات (٣) زادت من فائدة TLC للتقدير الكمى . ولقد استخدم هذا التكنيك على نطاق واسع ولسنوات عديدة لتأكيد التعريف الخاص بمخلفات المبيدات التى كشف عنها بالطرق الاخرى مثل الكرماتوجرافى الغازى GC (٤) .

بالنسبة لطرق الكشف المتعدد عن المركبات الكلورينية وصفت طرق TLC مناسبة فى العديد من الدوريات (٥ و ٦ و ٧ و ٨) . وجميع هذه الطرق تعتمد على فصل المبيدات ونواتج تمثيلها على طبقات السليكا جيل أو الالومينا مع استخدام نظم مذيبات غير قطبية مثل ايثير البترووليم او مخاليط ايثير البترول مع الاسيتون أو الداى ايثيل ايثير أو الايثانول . والكشف عن المركبات المفصولة عادة يتم باستخدام نترات الفضة والاشعة الفوق بنفسجية UV وهى تسمح بالكشف عن مخلفات فى حدود ٠,٠١ ملجم/كجم فى معظم الحالات .

بالنسبة للمبيدات الفوسفورية العضوية ونواتج تمثيلها (مثل الاوكسون والسلفوكسيد والسلفونات) تستخدم السليكا جيل ويعتمد نظام المذيبات العضوية على قطبية المركبات التى يراد الكشف عنها . بالنسبة للجواهر الكشافة الملونة يستخدم ٤ (بارا - نيتروبنزيل) بيريدين أو ٢ و ٦ داى برومو - ن - كلورو - بارا - كوينونيجين وغيرها . وفى العديد من الحالات يوصى باستخدام الكشف الانزيمى حيث يمكن تقليل عمليات التنظيف بدرجة كبيرة (٩ و ١٠) وطرق الكشف عن الكاربامات يناسبها الطرق الانزيمية .

توجد طرق TLC مناسبة فى المتناول (II) لتحليل مخلفات مبيدات الحشائش مثل أحماض الكلوروفينوكسى الكانويك والترايازين واليوريا والكاربامات .

والتقدير الكمى عادة يعنى بالكشف المقارن لحجم البقع المفصولة مع المركبات القياسية ويمكن الحصول على نتائج اكثر دقة باستخدام مقياس الكثافة للبقع .

فى المقابل للـ TLC تعطى الطرق الاسبكترومترية تقديرات كمية فقط . فيما عدا التخصص فى تكوين اللون فان الطرق الاسيكتروفوتومترية تفتقر الى التخصص ومن ثم تكون اكثر حساسية للمواد المتداخلة (١٢) . لذلك تكون الطرق الاسبكتروفوتومترية مفيدة عندما تندمج مع TLC كوسيلة تأكيدية Confirmatory .

عندما لا تتوفر طريقة التحليل المناسبة أو البحث عن بديل للطرق القائمة يمكن استخدام طرق التقييم الحيوى bilogical assay (١٣ و ١٤ و ١٥) . وبالرغم من ان هذه الطرق غير متخصصة الا انه يسهل دمجها مع TLC مما يزيد من سرعة التحليل .

لقد نشرت لجنة IUPAC المختصة بكيمياء المبيدات مختصرا عن تطوير وتقييم طرق الكشف المبسطة لمخلفات المبيدات (١٦) . وخلصت الى ضرورة واهمية تطوير طرق تحليل متعددة الاغراض تعتمد على الاجهزة والإمكانيات البسيطة كما تتميز بالسرعة وقلة التكاليف .

References : قائمة المراجع

1 . C.E. Mendoza, Residue Rev. 50, 43 (1974).

2 . J.D. McNeil, R.W. Frei, J. Chromatogr. Sci. 13, 397 (1975).

3 . B.A. Karlhuber, D.O. Eberle, Analyt. Chem. 46, 1094 (1975).

4 . M.S. Schechter, Pestic. Monit. J. 2, 1 (1968).

5 . Pesticide Analytical manual, Vol. I, U.S. Department of Health, Education and Welfare, FDA (1977).

6 . Analytical Methods for Pesticide Residues in Food Canada Department of National Health and Welfare, Ottawa (1973).

7 . Deutsche Forschungsgemeinschaft : Ruckstandsanlytik von Pfflanzenschutzmitteln, Verlag Chemie, Weinheim, 1977.

8 . Klisenko, M., ed. Methods for Determination of Pesticide Residues in Foodstuffs, and Environmental materials, Moscow "Kolos", (1977) pp. 368.

9 . C.E. Mednoza, J.B. Shields, J. Agr. Food Chem, 21, 1978 (1973).

10 . H. Ackermann, J. Chromatogra, 36, 309 (1968).

11 . G. Yip, J. Chromatogr. Sci. 13 (5) 225 (1975).

12 . G.E. Keppel, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 52, 162 (1969).

13 . S. Nagasawa, Ann. Rev. Entomol. 4, 319 (1959).

14 . W.M. Hoskins, R. Craig, Ann. Rev. Entomol. 7, 437 (1962).

15 . R.C.C. Wegman, M.D. Northolt and P.A. Greve, Mededed. /Rijksfac. Landb. Gent. 40, 1077 (1975).

16 . V. Batora, S. Lj. Vitotovic, H., Thier, M.A. Klisenko, IUPAC Report on Pesticides (13) Development and Evaluation of Simplified Approaches to Residue Analysis (1981).

الفصـــل العاشـــر

– عمليات التحليل الجيدة لتقدير مخلفات المبيدات

Good analytical practice in the determination of pesticide residues

– القائم بالتحليل The analyst

– المتطلبات الاساسية Basic resources

– المعمل The laboratory

– الأجهزة والمعدات وعناصر التشغيل Equipments and supplies

– عناصر التشغيل Supplies

– الاجهزة المناسبة Adequate equipment s

– التحليل The Analysis

* تجنب التلوث Avoidance of contamination

* التلوث من البيئة المحيطة فى المعمل

Contamination from the working environment.

* التلوث عن طريق التحليل المستخدم

Contamination from the procedure being used.

* تجنب التلوث Avoidance of contamination

* التلوث من البيئة المحيطة فى المعمل

Contamination from the working environment.

* التلوث عن طريق التحليل المستخدم

Contalmination from the procedure being used.

* تجنب الفقد Avoidance of losses.

* الفقد خلال التحليل Losses during analysis

– صلاحية الطرق Validation of methods.

– المحافظة على كفاءة التحليل

Maintenance of over-all analytical performance.

– دراسات الاسترجاع Revovery studies.

- اختبار لتحديد دور التداخلات Blank responses of interferences
- ثبات المواد القياسية Stability of standards
- تحليل عينات المقارنة Analysis of check samples
- الاشتراك فى دراسات مشتركة / اختبارات الحلقة

Participation in collaborative studies/ring tests.

- الاختبارات التأكيدية Codfirmatory tests
- مصادر الاخطاء المسئولة عن اختلاف بيانات المخلفات

Sources of error which contribute to variability of residue data.

- التأكيـــد Confirmation
- الحساب Calculation
- الاخطاء Errors
- تدوين النتائج Reporting results
- تقرير عن تجربة تحليل مخلفات المبيد - الجزء الثانى (B) الخاص بالتحليل .

* تعريف العينة .
* التحليل .
* النتائج .

- رسم تخطيطى لمراحل تحليل المبيدات
- الاحتياجات والمتطلبات .
- الرموز والقواعد
- الاستخدامات
- اسلوب وصف العمل داخل المعمل .
- تمثيل الطرق البديلة .
- نماذج الطرق الالية .

عمليــات التحليـــل الجيــدة لتقـديـر مخلفـات المبيــدات

Good Analytical Practice in the determination of Pesticide Residues

لقـد عرفت دلائل التحليل الجيـدة GAP هذا المفـهـوم فى ثلاثة اتجاهات تشـمل القـائم بالتحليل Analyst والمتطلبـــات الأساسية Basic Resources وكـذلـك طــرق التحليل The Analysis :

* **القائم بالتحليل The Analyst :**

يتكون تحليل مخلفات المبيدات من سلسلة من الخطوات معظمها معروف او مفهوم جيدا من قبل الكيميائى المتمرن ونظرا لان مجال الخطأ قليلا بالمقارنة بما هو موجود فى الانواع الاخرى من التحليل واى خطأ يمكن ان يؤدى الى عدم صلاحية التحليل الكلى لذلك يمكن الالمام بكل تفاصيل خطوات التحليل . يجب ان تكون هناك استمرارية واشتراك مناسب للقائمون على التحليل وهم فى حاجة كبيرة للتدريب والخبرة فى التحليل خلال سنوات كافية . يجب ان يتدرب مسئولى التحليل على الاستخدام الصحيح للاجهزة والمهارات المعملية الاساسية وكذا اساسيات تحليل مخلفات المبيدات ويجب عليهم ان يتفهموا الغرض من كل خطوة من خطوات التحليل المستخدمة واهمية اتباع الطريقة بحذافيرها كما وصفت تماما ومراعاة اية مسببات قد تغير من النتائج . كما ان الفهم الواضح للمصطلحات والمسميات فى مجال تحليل المخلفات من اكبر الضروريات . ومن الناحية النموذجية انه عند انشاء معمل لتحليل المخلفات يجب ان يقضى من سيقومون بهذا العمل بعضا من فترة التدريب فى معمل مجهز ويعمل جيدا وبه خبرات على درجة عالية من الكفاءة . واذا كان المعمل سيضطلع بمهام تحليل مدى واسع من مخلفات المبيدات قد يصبح من الضرورى ان يتمرن العاملون فى اكثر من معمل متقدم واحد .

المتطلبات الاساسية Basic Resources

المعمل The Laboratory :

فى الظروف النموذجية يجب ان يصمم المعمل بحيث يكون الهدف من انشاؤه واضحا الا وهو التحديد الدقيق للمناطق ذات الامان العالى والتى يكون فيها فرصة تلوث العينات بالمخلفات اقل ما يمكن . وكذلك يجب ان تكون مكونات المعمل مجهزة من مواد تقاوم فعل الكيميائيات التى قد تستخدم فيها . وفى هذه الظروف النموذجية يجب توفر حجرات منفصلة لاستقبال العينات وتخزينها وتجهيزها للاستخلاص والتنظيف وللأجهزة المستخدمة فى خطوات التقدير . والمنطقة المعدة للاستخلاص والتنظيف يجب ان توائم مواصفات المذيبات المعملية وكذلك امكانيات ووسائل استخلاص الابخرة والتى يجب ان تكون من نوعية جيدة . واقل متطلبات لتحليل مخلفات المبيدات تلك التى تتمثل فى توفر الإمكانيات المناسبة لتفادى حدوث التلوث .

يجب ان يؤخذ فى الاعتبار أمان المعمل من مفهوم ضرورة توفير الظروف المناسبة والتى تتمشى مع المعامل المتقدمة مع التسليم بان الظروف السائدة فى معمل ما قد لا تتوافق بالمرة مع المعامل الاخرى . لا يجب السماح بالتدخين او الاكل او الشرب او استخدام مواد التجميل فى منطقة العمل . ويجب الا تترك إلاّ كميات صغيرة من المذيبات فى منطقة العمل حيث تخزن بقية المذيبات فى اماكن منفصلة عن منطقة العمل الرئيسية . يجب تجنب استعمال المذيبات السامة والجواهر الكشافة طالما كان ذلك ممكنا . يجب تخزين المذيبات التالفة بأمان ويتخلص منها باستمرار .

يجب معاملة منطقة العمل الرئيسية كمعمل للمذيبات وجميع الاجهزة مثل مصادر الاضاءة والخلاطات والثلاجات تكون منفصلة عن بعضها من حيث مصدر القوى . يجب اجراء الاستخلاص والتنظيف وتركيز المستخلصات فى منطقة جيدة التهوية ويفضل ان تكون داخل خزانات الغازات .

يجب عمل مصافى امان عندما تستخدم الادوات الزجاجية تحت ضغط او تفريغ . كما يجب ان يكون هناك مصدر موثوق به للتزويد بالزجاجيات المأمونة والقفازات وغيرها من الملابس الواقية وامكانيات غسيل الطوارئ ووحدات الشطف والغسيل الجاهزة . يجب على العاملون فى المعمل ان يتدربوا على استخدام هذه الوسائل مع الالمام الكافى بالأخطار الممكنة . والعاملون لابد ان تكون لهم دراية بان العديد من المبيدات ذات صفات سامة وان هناك خطر بسيط قد يحدث من جراء تداول معظم العينات كما يجب اتخاذ العناية الكافية عند تداول المركبات القياسية . ويجب ان يزود المعمل باجهزة اطفاء الحريق المناسبة . ويجب ان يتعرض العاملون بالمعمل للفحوصات الطبية بصفة دورية . واذا كان المعمل مزود بكاشفات الكترونية تحتوى على التريتيوم يجب الكشف الدورى عن H3 فى البول .

* الاجهزة والمعدات وعناصر التشغيل Equipments and supplies

** عناصر التشغيل Supplies :

يجب تزويد المعامل بعناصر التشغيل مثل الكهرباء والماء والغازات المختلفة سواء فى انابيب او اسطوانات ذات جودة عالية . ومن الضرورى تزويد المعامل بصفة منتظمة بالجواهر الكشافة والمذيبات والادوات الزجاجية والاوساط الثابتة ... وغيرها . كما يجب توفير خدمات صيانة واجهزة الكروماتوجرافى الغازى والموازين والاسبكتروفوتومترات ... الخ . كما يجب الاحتفاظ ببعض قطع الغيار وكذلك بعض الاجزاء الاخرى .

** الاجهزة المناسبة Adequate equipment :

فى الحالة النموذجية يجب ان تكون الاجهزة متمشية مع التكنولوجيات الحديثة مثل

الكروماتوجرافى الغازى المزود بالكمبيوتر وهذا الجهاز يتطلب صيانة كافية لكى يؤدى العمل بطرق مرضية . ان متطلبات استكشاف المخلفات فى السلع عند المستويات المسموح بها اقل صرامة من تلك المطلوبة فى البحوث . جميع المعامل تتطلب مدى مناسب من المبيدات القياسية ذات نقاوة معروفة وعالية . يجب ان يغطى هذا المدى جميع المركبات الاصلية التى يقوم المعمل بالكشف عنها وكذلك نواتج التمثيل الاكثر شيوعا ومعظم هذه المركبات موجودة حالياً على المستوى التجارى .

* التحليل The Analysis :

** تجنب التلوث Avoidance of contamination

من اكثر الاسباب شيوعا والتى تؤدى الى اختلاف نتائج تحليل مخلفات المبيدات عن نتائج التحليل الاقل دقة macro analysis مشكلة التلوث . ان وجود آثار من اى ملوث فى العينة النهائية التى تستخدم فى مرحلة التقدير النهائية قد تحدث زيادة فى نسبة الخطأ كأن تعطى نتائج ايجابية زائفة وقد تؤدى الى فقد حساسية الطريقة والتى تمنع القائم بعملية التحليل من تحقيق الحدود الضرورية للتقدير . التلوث قد ينشأ من البيئة أو من طريقة التحليل .

** التلوث من البيئة المحيطة فى المعمل

Contamination from the working environment

دهانات الرفوف والشموع والدهون الحاجزة والصابون المحتوى على مضادات الجراثيم والرش ضد الذباب والعطور ومواد التجميل جميعها اشياء تزيد من تلوث المعمل وتكون ذات تأثير كبير عندما يستخدم كاشف صائد الالكترونات فى جهاز الكروماتوجرافى الغازى . وليس هناك حل حقيقى لهذه المشكلة الا بايقاف استخدام هذه الاشياء .

الشحوم والبلاستيكات واغطية الكاوتشوك والانابيب الكاوتشوك والزيت من الخطوط الهوائية واوانى الإستخلاص واوراق الترشيح والصوف الزجاجى يمكن ان تزيد من تلوث محلول الاختبار النهائى .

يجب تخزين العينات القياسية للمبيدات فى غرفة منفصلة عن معمل التحليل الرئيسى . العينات الحقلية وتجهيز العينات وتحليل المستحضرات يجب ان تجرى منفصلة عن معمل تقدير المخلفات الرئيسى وكل منها منفصل عن الآخر .

** التلوث من طريقة التحليل المستخدمة

Contamination from the procedure being used

تلوث الادوات الزجاجية والحقن واعمدة الكروماتوجرافى الغازى قد تنتج من العينات السابقة . جميع الادوات الزجاجية يجب ان تنظف بالمنظفات وتغسل بعناية ثم تشطف بالمذيب . ويجب ان تتوفر فى المعمل كمية من الزجاجيات لتحليل مخلفات المبيدات . الجواهر الكشافة الكيميائية ومواد الامتصاص ومذيبات المعامل قد تحتوى على مكونات تتداخل مع التحليل . ومن الضرورى ان تجرى عمليات تنقية للجواهر الكشافة ومواد الادمصاص عن طريق التسخين ومن الضرورى استخدام المذيبات المعاد تقطيرها . الماء الغير متأين عليه شكوك والماء المعاد تقطيره يفضل . وفى حالات كثيرة يمكن استخدام ماء الحنفية أو الآبار .

لا يجب السماح باستخدام اى اجهزة تحتوى على ال PVC فى معمل تحليل المخلفات . المواد الاخرى المحتوية على بلاستيك مثار شك ولكن مشتقات PTEE وكاوتش السليكون عادة تكون مقبولة والاخرى تقبل تحت ظروف خاصة والعبوات المحتوية على العينات المخزنة قد تسبب الثلوث والعبوات الزجاجية مع الاغطية الزجاجية الخاصة دائماً ما تستعمل . ان طبيعة واهمية التلوث قد تختلف تبعا لنوع التقدير المستخدم ومستوى مخلفات المبيدات المطلوب تقديرها . والمشاكل المتعلقة بالتلوث والتى ترتبط اهميتها بطرق التقدير التى تعتمد على الكرماتوجرافى الغازى او HPLC قد تكون اقل اهمية اذا تم التقدير بالطرق الاسبكتروفوتومترية والعكس صحيح . مع المستويات العالية من المخلفات فان التداخلات التى قد تحدث من المذيبات وغيرها من المواد تصبح غير مؤثرة معنويا بالمقارنة بكمية المخلفات الموجودة . بينما يمكن حل العديد من المشاكل باستخدام الكاشفات المتخصصة . اذا لم تتداخل الملوثات مع المخلفات الموجودة فان وجودها قد يصبح مقبولا .

**** تجنب الفقد Avoidance of losses**

الفقد خلال التخزين Losses during storage

فى الظروف النموذجية يجب ان تخزن العينات تحت ظروف حرارة معتدلة البرودة بعيدا عن ضوء الشمس المباشر كما يجب ان تحلل فى خلال ايام قليلة . وتحت بعض الظروف قد تتطلب العينات التخزين لفترة اطول (٦ - ٩ شهور) قبل التحليل وهنا يجب اتخاذ الاحتياطات التالية :

حرارة التخزين تقارب - ٢٠ م عندما يكون انهيار مخلفات المبيدات بفعل الانزيمات منخفضا جدا . واذا كان هناك أية شكوك يمكن مقارنة العينات بتلك المقواة بنفس المبيد والمخزنة تحت نفس الظروف . يجب اعادة تجانس جميع العينات بعد التجمد حيث هناك ميل للماء ان يخرج ويتجمع كبللورات ثلج . وهذه اذا استبعدت ستؤثر على نتائج التحليل . والبديل لتجنب هذا الوضع ان تقسم العينة الى وحدات للتحليل قبل التجميد . يجب الا تسمح العبوات المستخدمة للتخزين ولا السدادات للمادة الكيميائية المحتوية عليها بالتسرب . العبوات لا يجب ان تسمح بالتسرب . جميع العينات يجب ان ترقم بوضوح ببطاقات دائمة وتسجل فى سجل العينات .

* الفقد خلال التحليل Losses during analysis

المستخلصات ومحاليل الاختبار النهائية لا يجب ان تتعرض لضوء الشمس المباشر .

** صلاحية الطرق Validation of methods :

يختلف المجهود الذى يبذل لتحقيق صلاحية الطرق بدرجة مؤثرة . فى المعامل التى تقوم بالاستكشاف الروتينى للمخلفات تبعا لمستويات الدستور او تلك المحددة على المستوى القومى تستخدم طرق قياسية فى معظم الحالات ومن ثم تكون مجهودات الصلاحية اقل ما يمكن . فى جميع المعامل تجرى اختبارات منتظمة عن التأثيرات التى تحدثها الاختلافات فى مصادر توريد الكيميائيات والمذيبات وغيرها . يجب اختبار كفاءة الطريقة عن طريق استرجاع المبيد القياسى الذى يضاف بمستويات مناسبة الى العينة وحدها او فى وجود كل من المواد الوسيطة . يجب دراسة تأثير الضوء والتخزين عند مرحلة وسيطة من خطوات التحليل والحرارة وغيرها على ثبات الجواهر الكشافة والعينات . من الاهمية بمكان تقييم كفاءة نظم التقدير (مثال ذلك الكروماتوجرافى الغازى والسائل) من حيث تأثير معدل الانسياب والحرارة .. الخ . وفى المعامل التى يجرى فيها تطوير و / أو تحوير للطريقة السائدة يجب دراسة تأثير بعض العوامل الاخرى مثل تأثير اختلاف حجم العينة ونسب التوزيع .. الخ وكذلك كفاءة ومقدرة الفصل وثبات العمود فى نظم الكروماتوجرافى السائل والغازى وكذلك الاختلافات فى كفاءة نظم اعمدة التنظيف .

** المحافظة على كفاءة التحليل

Maintenance of Over-all Analytical performance

يوجد فى جميع المعامل المعنية بتحليل مخلفات المبيدات حاجة لتقييم كفاءة الطرق المستخدمة فى التحليل بصورة منتظمة على مستوى الحدود المسموح بها tolerance او فى اقل حدود للتقدير .

* * دراسات الاسترجاع Recovery studies :

يجب استرجاع المبيدات من العينات المقواة Spike samples كاختبار شائع لقياس كفاءة الاستخلاص والخطوات التالية ولكن تجدر الاشارة الى ان هذه الدراسات ذات قيمة محدودة . ومعظم الآراء تعول على اجراء الاسترجاع على المخلفات فى حالتها الحقيقية real state اى فى مجموع العينات aged . وتجدر الاشارة كذلك الى ان الطريقة التى تعطى استرجاع مناسب من العينات التى عوملت او قويت باضافة المركبات الاصلية من المبيدات قد تكون غير مناسبة لقياس نواتج التمثيل المؤثرة والتى تتكون خلال الاحتفاظ بالعينة . ويجب ان تتراوح نسبة الاسترجاع من ٧٠ - ١١٠ ٪ بمتوسط يزيد عن ٨٠ ٪ بعد ازالة الشوائب .

** اختبار لتحديد دور التداخلات Blank responses of interferences :

التحليل الدورى والمنتظم للأوساط المعروف خلوها من مخلفات المبيدات ذات ضرورة للتأكد من عدم حدوث تلوث .

** ثبات المواد القياسية Stability of standards

ان الحقن المنتظم للمركبات القياسية خلال تحليل مجموعات العينات تسمح بالتأكد من كفاءة خطوة التقدير . بالاضافة الى ذلك يجب اتخاذ العناية للتأكد من ان المحاليل القياسية للمبيدات لا تتحلل من جراء تأثير الضوء او الحرارة خلال التخزين او تتركز نتيجة لتبخير المذيبات . يجب اتخاذ نفس العناية للتأكد من ثبات المركبات القياسية المرجعية .

** تحليل عينات المقارنة Analysis of Check samples :

من افضل الوسائل لاستكشاف كفاءة طريقة التحليل (أو القائم بالتحليل) هو تحليل عينات مقارنة على فترات منتظمة . وهذه العينات يجب ان تقدم كعينات روتينية بدون اى علامات أو توضحيات تدل على طبيعتها .

** الاشتراك فى دراسات مشتركة / اختبارات الحلقة

Participation in collablorative studies/ring tests

تنظم مختلف الهيئات القومية والدولية دراسات مشتركة على طرق خاصة أو / و اختبارات الحلقة على مواد وسيطة خاصة . وهذه الدراسات تقدم اسلوب نموذجى فى المعامل لتقدير كفاءتها الخاصة . واذا كان فى الامكان تؤخذ عينات مشتركة توزع بشكل روتينى حتى لا يضطر القائم بالتحليل لعمل جهد خاص مما قد يفقد العينات صلاحيتها فى الكشف عن كفاءة المعمل .

** الاختبارت التأكيدية Confirmatory tests :

بالنسبة للاختبارات الروتينية عندما يكون مدى القيم الناتجة على الاقل ولحد معين معروفة قبل اجراء الاختبارات لذلك لا يكون للاختبارات الروتينية اية اهمية . وفى حالة ما اذا كانت هناك شكوك فان صلاحية النتائج تكون فى حاجة لاختبارات تأكيدية . وهذه الاختبارات يمكن ان توضع تحت عدد من السبل مثال ذلك :

– استعمال الفصل الجزئى بالمذيبات مثل قيم « أ »

– استعمال اعمدة الكروماتوجرافى الغازى المتعددة . وبالرغم من ان هذا الاسلوب مستخدم على نطاق واسع الا ان قيمته محدودة لأنه فى جميع الحالات تكون اساسيات الطريقة

الكروماتوجرافية متماثلة .

- استعمال طرق كروماتوجرافية مختلفة . فى حالات عديدة يمكن تأكيد النتائج التى تحصل عليها من الكروماتوجرافى السائل ذ ى الكفاءة العالية HPLC . وكلاهما له مميزات واضحة تفوق الكروماتوجرافى الغازى فى بعض الحالات خاصة اذا كان التحليل يتضمن مواد غير ثابتة حراريا . وبقدر الامكان يفضل ان تجرى الاختبارات التأكيدية بدلا من الاعتماد الكلى على كفاءة اعمدة الكروماتوجرافى الغازى كطريقة للتعريض .

- استعمال كاشفات مختلفة .

- استعمال طرق التحول الكيميائى derivatisation . هناك طرق عديدة وكتيبات متوفرة عن انواع التحولات الكيميائية التى يمكن عملها . ومن الطرق المشتركة استخدام الاشعة الفوق بنفسجية لتغيير التركيب الكيميائى للمركب تحت الدراسة .

- الكروماتوجرافى الغازى مع اسبكترومترى الكتلة GC-mass spectrometry من اكثر الطرق شيوعا فى المعامل جيدة التجهيز ولكنه غير متوفر فى غالبية معامل تحليل المخلفات .

- طرق الفصل الكروماتوجرافى الغازى السائل الاولية وهى تعطى تعريف عن مكونات المخلفات حيث انها تعتمد على مواصفات المخلفات الموجودة .

مصادر الأخطاء المسئولة عن اختلاف بيانات المخلفات :

Sources of error which contribute to variability of residue data.

الطريقة المعملية لتقدير تركيز المخلفات عبارة عن سلسلة متتابعة من الخطوات والاخطاء المنتظمة والعشوائية والتى قد تحدث مع كل منها . الخطوات النموذجية التى تحدث بعد استقبال العينة فى المعمل هى بالترتيب :

- تجزئ العينات — sub-sampling
- الاستخلاص — extraction
- خطوات التنظيف — clean-up steps

التحليل بما فيها تجهيز واستخدام المحاليل القياسية Analysis (standard solutions)

– التأكيد Confirmation

– الحساب Calculation

ان العمليات التى تجرى على العينات الاصلية هى نفسها التى تجرى على العينات المجزأة بمعنى ان كل جزء أو قطعة من العينة يجب ان يكون لها نفس الفرصة المتاحة لعينة التحليل . من الاهمية أخذ عينة مجزأة (تحت عينة) ذات حجم مناسب . عن طريق الطرق الحديثة اصبح فى الامكان تحليل عينة صغيرة جدا ومع هذا يعتبر هذا التحليل ذو قيمة عملية قليلة . طرق أخذ عينات مجزأة ممثلة موجودة فى دوريات تحليل مخلفات المبيدات المنـــشورة فى دول عديدة ومنها Pesticide analytical manual of the US food and drug administration وفيها كل تفصيلات الاختبارات المشتركة .

يمكن تقسيم طرق الاستخلاص الى نوعين الاول الذى يستهدف ازالة كل المخلفات من العينة حيث يؤخذ كمية كبيرة من المادة النباتية فى المحلول والثانية تحاول ازالة مخلفات معينة بالاختيارية وهذا يستدعى مجهودات لتقليل تركيز المواد المتداخلة وهى تسمح بجعل كفاءة استخلاص المخلفات غير كمى . وبوجه عام يفضل الاختيار او القسم الاول خاصة مع المبيدات التى تمتص او تتركز فى اجزاء خاصة من المواد الغذائية او التى تنهار الى مركبات ذات صفات طبيعية مختلفة .

ان الدراسات التى تستهدف تحقيق استخلاص كامل لمخلفات المبيد من الوسط الموجود فيه يجب ان تكون جزء اساسى وهام عند تطوير الطريقة المناسبة للتحليل . يمكن تقدير درجة كفاءة استخلاص المخلفات عن طريق الاستخلاص من العينات الميدانية Weathered residues الناتجة من استخدام المبيد على المحصول النامى بطرق تزيد من البساطة . ويمكن اجراء التطبيق بالمركب المشعع او غير المشعع . استخدام المركب المشعع radio-labelled ذات ميزة حيث يمكن تقدير كل المخلفات واى مادة مشعة باقية بدون استخلاص مع اى طريقة خاصة يمكن الكشف عنها . بالاضافة الى ذلك يعنى وجود المادة المشععة ان نواتج التكسير يمكن تعريضها وتقدير كفاءة استخلاص مخلفاتها . وعلى العكس فان المركب الغير مشعع وضعت له افتراضات مؤداها ان معظم الطرق تزيل المركب تماما وان المذيبات والطرق الاخرى تقارن به كأساس .

بالنسبة للمركبات التى يصعب إستخلاصها مثل المخلفات المنقولة فى الجذور تكون العوامل المؤثرة هى المذيب المناسب والتلامس الكافى بين المذيب والمخلفات وكذلك المكون القطبى اذا كان مخلوط المذيب يحرر المخلفات ويحتمل الحرارة .

اذا استخدمت طرق للاستخلاص الكمى فان خطوات التنظيف المتتالية قد تؤخذ فى الاعتبار وهذا هو الجزء الذى يستغرق معظم وقت طريقة التحليل حيث احتمال حدوث اخطاء معروفة كبير . ومن الاهمية بمكان عند هذه المرحلة اجراء تحليل لعينات لتقدير الاسترجاع فى كل مجموعة

تقدير للتأكد من حدوث اى فقد .

تحدث الاخطاء خلال مراحل متعددة من التحليل الخاص بتقديرالمخلفات وفى خطوة التقدير نفسها . وعلى سبيل المثال مع الكروماتوجرافى الغازى فان اساس معظم طرق تقدير المخلفات يتمثل فى حجم من مستخلص العينة بمحقن ذات نسبة خطأ عشوائى قليل والتى يمكن تصحيحها اذا استخدم نفس الحجوم من المحاليل القياسية عند المعايرة . وربما يكون اكثر الاخطاء خطورة تلك التى تحدث فى الطرق الكروماتوجرافية لان المواد الموجودة فى المستخلصات co-extracted ذات صفات متماثلة لتلك المميزة للمبيد تحت الدراسة من حيث مواصفات الفصل Retention char-acteristics تحت نفس ظروف عملية التقدير . وهذا التداخل يعنى ان اى قمة منحنى peak موجودة عند زمن الفصل الصحيح قد تكون ممثلة للمبيد او تمثل المواد المتداخلة او مخلوط من الاثنين . لذلك فان كمية المبيد المقدر من اى قمة منحنى منفردة على الكرماتوجرافى دائما تمثل اقصى مستويات ممكن للمخلفات المقاسة تحت هذه الظروف وليس من الضرورى ان تمثل التركيز الحقيقى للمبيد .

من مصادر الخطأ التقليدى فى تحليل المستخلصات تجاهل نقاوة المادة القياسية المستخدمة فى التحليل وتصحيح تركيزات المحاليل الاولية والمستخدمة فى الطريقة . ليس مطلوبا ان تكون المواد القياسية المستخدمة فى تحليل المخلفات انقى ما يمكن ولكن المطلوب ان تكون النقاوة معروفة كما يكون ثبات المركب معروفا تحت الظروف التى سيخزن فيها . وهذا حقيقى كذلك فى حالة المحاليل القياسية حيث يجب ان يكون ثباتها معروف كما يجب تجديدها واحلالها على فترات منتظمة .

التأكيد Confirmation :

يجب ان تبنى الطرق التأكيدية على الاقترابات والطرق التى تختلف بقدر الامكان عن طريقة التحليل الاساسية فى الاساسيات الطبيعية والكيميائية . لذلك فان وقت الفصل على وسط ثابت آخر فى جهاز الكروماتوجرافى الغازى السائل GLC يعطى بعض التأكيدات ولكنها طفيفة حيث ان العديد من المركبات لها درجة عالية من الارتباط بين فترات الفصل على الاوساط المختلفة . وهناك طرق تعطى تأكيد واضح فيما يتعلق بتعريف المركب مثل طيف الكتلة . وهناك طريقة اخرى تعتمد على تحويل المبيد الى احد المشتقات التى تناسب الفصل الكروماتوجرافى اللاحق والعديد من طرق التحويل نشرت فى الحقبة الماضية .

الحساب Calcultion :

فى الدراسات المشتركة وجد انه عندما يقدر تركيز المخلفات من صور ضوئية للخريطة الكروماتوجرافية المتحصل عليها من التحليل تكون دقة النتائج فقيرة بدرجة تثير الدهشة . ان وضع خط اساس مقبول acceptable base-line والتصحيح الخاص بالمواد المتداخلة (ذات القمم الصغيرة) يبدو انها تجرى فى ظل اختلافات واسعة تبعا لإختيار الفرد . هذا اتجاه بسيط ولكن هناك حسابات اكثر صعوبة فى الاصل مثل تعريف مخاليط قمم المنحنيات العديدة التى ظهرت

على الكروماتوجرام كما فى حالة الكلوردان . ان الحساب بالنسبة للمركب القياسى الخارجى قد يعتمد على المساواة normalisation (اذا كان ذلك ممكنا) او على واحد أو اثنين من القمم او على وقت الفصل الطويل او القسم الخاصة بالعينات الغير ميدانية أو بالمقارنة مع المنتج التجارى . كل هذه الحسابات تعطى نتيجة مختلفة وكل منها يمكن اعتباره صحيحا .

على القائم بالتحليل ان يقرر ما اذا كان سيستعمل عامل التصحيح لتركيز المخلفات المحسوب تبعا للإسترجاع خلال مراحل التنظيف والتقدير . فى تجارب الاسترجاع recovery التى تجرى جنبا الى جنب مع العينات المختبرة فان المبيد المضاف يمكن استرجاعه بشكل كمى . اذا عمل حساب الاخطاء العشوائية التى تحدث فى اثناء التنظيف والتحليل يمكن اعتبار الاسترجاع كميا اذا كانت النسبة الموجودة تقع بين ٧٠ - ١١٠ ٪ من تلك التى اضيفت فى البداية . اذا كان الاسترجاع اقل من ذلك ولكنه دقيق بناء على تجارب متعددة يمكن استخدام التصحيح الخاص بالاسترجاع . اذا كان الاسترجاع منخفضا ومتغير يجب فحص خطوات الطريقة لمعرفة بعض العوامل الغير مرغوبة والتى تحدث فقدا غير منتظما .

التصحيح بالنسبة للعينة القياسية الخالية من المبيد Blank يعتبر سؤالا صعبا فى مجال تحليل المخلفات . من غير المقبول خصم تركيز المخلفات الظاهرى apparent فى العينة الغير معاملة (اذا كان هناك عينة غير معاملة) من التركيز فى العينة المعاملة . هناك اعتباران ، فى حالة واحدة فقط اذا كانت قمة منحنى الفصل فى الكرماتوجرام الخاص بالعينة الغير معاملة ترجع الى التداخل من جراء مادة موجودة فى المستخلص co-extracted يكون السؤال هل يمكن التصحيح بالـ sBlank . بالرغم من صعوبة تأكيد ذلك خاصة انه ليس مستغربا ان تحتوى عينة المقارنة على تركيز صغير من المبيد من جراء انجراف المبيد من مكان المعاملة أو تلوث العينة . اذا كانت قمة الفصل فى كروماتوجرام العينة الغير معاملة كما هو فى الوضع الحقيقى متسببة بالمبيد لا يجب اجراء تصحيح باستخدام عام الـ Blank .

الاخطاء Errors :

الاختلاف فى النتائج الخاصة بمخلفات المبيدات فى العينات قد تنشأ من عدد كبير من العوامل الغير مرتبطة ببعضها وكل منها قد يساهم فى احداث خطأ عشوائى او غير عشوائى او كلاهما معا . يمكن حساب الخطأ العشوائى الكلى من الأخطاء الفردية عن طريق قانون تزايد الاخطاء Law of propagation of errors حيث ان التباين الكلى يساوى مجموع الاختلاف الناتجة من العوامل الغير مرتبطة (التباين = مربع الانحراف القياسى) .

الخطأ العادى Systematic لأى طريقة يحدد دقة النتائج أو مدى قرب النتائج من القيم الحقيقية وكلما زاد الخطأ كلما قلت دقة الطريقة وكلما بعدت عن النتيجة الحقيقية . ان تجارب الاسترجاع تعتبر مقياس للخطأ العادى (مؤكدا ان الطريقة تحقق استخلاص كمى نظرا لأن تجارب الاسترجاع لا تقيس الاخطاء فى عملية الاستخلاص) . فى معمل التحليل معروف الخبرة فى تحليل مخلفات المبيدات والذى يستخدم طرق صالحة ومناسبة فان الانحراف عن قيمة الاسترجاع

الكلى ١٠٠٪ فى متوسط مجموعة من تجارب الاسترجاع عادة تقل عن ١٠ ٪ . لذلك يمكن القول ان العديد من طرق تقدير المخلفات الشائعة الاستخدام والمشتركة تكون بالضرورة كمية .

من المكونات الاخرى للخطأ الكلى ما يعرف بالخطأ العشوائى random error وهو يحدد دقة نتائج اى طريقة وكذلك قربها من اى طريقة اخرى . وكلما زاد الخطأ كلما افتقرت الدقة وبعد النتائج بعضها عن الاخر . المقاييس العادية للخطأ العشوائى هى الانحراف القياسى والانحراف القياسى النسبى (نسبة الانحراف القياسى الى المتوسط) . ان قياس الخطأ العشوائى فى معمل ما فى حالة قيام متخصص واحد بالتحليل و الحصول على نتائج متتابعة عند استخدام نفس الجهاز وتحت ظروف تشغيل ثابتة على مادة اختبار متماثلة يسمى « تكرارية الطريقة Repeatability of the method » . بالنسبة لطرق تقدير المخلفات الشائعة الاستعمال والمقبولة بناء على الدراسات المشتركة يعبر عن تكرارية الطريقة على اساس الانحراف القياسى النسبى بالقيمة القصوى واحد . وهذه القيمة تتحقق مع العاملون ذوى الخبرة الكبيرة والعاملون فى معمل جيد التجهيز مع استخدام طرق مناسبة فى حدود التركيزات التى يكشفون عنها .

تدوين النتائج Reporting results

يعتمد هذا الجزء من تحليل مخلفات المبيدات بدرجة كبيرة على متطلبات الجهات المعنية بالتحليل ومن الصعب وضع قواعد صارمة لتدوين البيانات والنتائج او حتى عن الدقة المطلوبة . ومن المتفق عليه ان كلا من القائم بالتحليل ومن سيقوم باستخدام معلومات تحليل المخلفات يكونا على رضاء تام بقدرات الطرق المستخدمة وتمثيل النتائج والبيانات التى تسفر عنها قبل بداية العمل . يعتمد صلاحية تمثيل البيانات الخاصة بالمخلفات على المعلومات المتاحة عن كيفية تأثير العوامل المختلفة ودورها فى اختلاف النتائج . ومن ثم فان عدد التحليلات يجب ان تجرى لتوضيح مدى الخطأ الموجود كما يجب حساب الانحراف القياسى .

يجب ان تشمل جميع بيانات التحليل الناتجة من العينات ما يتعلق بالمركب الاصلى ونواتج التمثيل وليس مجرد ملخصات او ارقام متوسطات . كما يجب توضيح كيفية حساب المخلفات وسبل التعبير عنها .

فى حالة الضرورة يجب كتابة مذكرات توضيحية تشرح اسباب التفاوت فى النتائج . فى معظم السلع يجب التعبير عن مخلفات المبيدات ونواتج تمثيلها على اساس المركب الكلى كما هو مسوق تجاريا . او كما هو مجهز للتسويق ومثال ذلك الخضروات بدون الاوراق الخارجية او الخضروات الجذرية بعد ازالة الاجزاء الهوائية ... الخ .

يجب ان تعضد بيانات المخلفات بواسطة :

١ - وصف كامل وشامل او الاشارة لطريقة التحليل المستخدمة بما فيها الاجهزة والجواهر الكشافة .

٢ – بيانات عن تخصص الطريقة المستخدمة .

٣ – بيانات عن حدود التقدير فى الطريقة المستخدمة على السلعة المعينة .

٤ – بيانات كافية عن الاسترجاع على مستويات محددة ذات صلة بتلك التى توجد فى الواقع العملى .

٥ – قيمة العينة الغير معاملة (المقارنة) والانحراف القياسى الخاص بها بما فيها عدد العينات التى بنى على اساسها الانحراف القياسى .

٦ – توضيح ما اذا كانت النتائج تعرضت للتصحيح ام لا بناء على (المقارنة غير المعاملة) او معدل الاسترجاع أو كلاهما .

٧ – توضيح كافى عن المعاملات السابقة لخطوات التحليل والتى اجريت على العينة مثل الغسيل والتقشير والتخلص من التربة أو اى طريقة تجهيز حدثت قبل التحليل . كل هذا يجب ان يذكر عن كمية مخلفات المبيد الموجودة .

FURTHER READING قراءات اضافية

Burke, J., and McMahon, B. "Analysis of Food for Residues of Pesticides", FDA By-Lines, No. 4. January 1977.

Cochane, W.P., Whithey, W. The Canadian Check Sample Programme on pesticide Residue analysis : Reliability and Performance. Pesticide Residues, 1979, Pergamon Press.

Car, M. Internal laboratory Quality Control in the Routine Determination of Chlorinated Pesticide Residues. Pesticide Residues, 1979 pergamon Press.

Telling, G.M. Good Analytical Practice in Pesticide Residue Analysis. Proc. Analyt. Div. Chem. Soc. Jan. 1979.

"Guidelines on Analytical Methodology for Pesticide Residues Monitoring", Federal Working Group on Pest Management, Washington, D.C. 20460, June 1975.

Sherma, J. "Manual of Quality Control for pesticides and Related compounds in Human and Environmental Samples", USA Environmental Protection Agency, EPA 600/1 76 017. February 1976.

"Pesticide analytical Manual", Volume 1, US Department of Health, Education and Welfare, food and Drug Administration.

تقرير عن تجربة تحليل مخلفات المبيد – الجزء الثانى (B) الخاص بالتحليل

الشخص او الاشخاص المسئولون عن التحليل :

....

* تعريف العينة Identity of sample :

المحصول السلعة	تعريف العينة او العدد
المبيد أو المبيدات المستخدمة على العينـة أو السـلعة	

* ظروف ومعاملات العينة أو العينات Condition and treatment of sample

تاريخ استلام العينة أو العينات فى المعمل	تاريخ أو تواريخ التحليل
طريقة التخزين وظروف العينة أو العينات جزء العينة أو العينـات التى تحلل	

* التحليل Analysis

طريقة التحليل (او المرجع) أو / و التحويرات الاستخلاص : التنظيف طريقة التقدير والتعبير عن المخلفات الاسترجاع حدود التقدير	

* النتائج Results :

معدل الجرعة الفترة من المعاملة وحتى اخذ العينات المخلفات* (بدون تصحيح للاسترجاع أو المقارنة) المقارنة (بما فيها الانحراف القياسى)	

أى معلومات اخرى مثل ثبات المخلفات تحت ظروف التخزين

* على صورة متوسطات او مدى او عدد التحليلات .

رسم تخطيطى لمراحل تحليل المبيدات

Schematic flow diagram for pasticide analysis

فى الغالب يكون وصف طريقة تقدير مخلفات المبيد طويلا ومعقدا نظرا لأنه يشتمل على العديد من الخطوات المتتابعة منذ بداية الإستخلاص وحتى التقدير والتأكيد . ومن الناحية العملية يصعب تمييز النقطة أو الخطوة المتميزة من خلال التفاصيل التجريبية العديدة وصعوبة متابعة الفصلات الكثيرة والخلطات العديدة . ومن هذا المنطلق يصبح من الاهمية بمكان وجود اسلوب مختصر واضح لطريقة التحليل . والاشكال التخطيطية لمراحل التحليل المتتابعة Schematic Flow Diagrams تستخدم على نطاق واسع فى مجال الالكترونيات وتكنولوجيا الكيمياء وغيرها من فروع المعرفة ولكنها لم تستخدم بعد فى الكيمياء التحليلية بالرغم من النشرات الخاص بهذا الموضوع .

الاحتياجات والمتطلبات Needs and Requirements

تحقق الرسوم التخطيطية لتحليل المبيدات بعض المتطلبات الاساسية والضرورية :

أ – يجب ان تمثل طرق التحليل بالاساسيات وليس بنوعيـــة الاجهزة لأنها تتغير مع التقدم التقنى .

ب – يجب ان توضح خطوات الفصل خطوات التجزئة والعزلات Fractionations و Isola-tions وغيرها والتى يجب ان توضح طبيعة المواد المساعدة مثل المذيبات بالاضافة الى مكونات العينة .

جـ – مسارات النقل والانسياب يجب ان توضح وبتكامل بقدر الامكان .

د – قواعد عمل خريطة العمل يجب ان تكون دقيقة بقدر الإمكان حتى يمكن استبعاد الاستنتاجات الخاطئة ولكنها تسمح كذلك باختيار اى الطريقين اما التفصيلات او الاختصارات ..

هـ – يجب ان تكون الرموز من عناصر بسيطة ما امكن تكفى لتسهيل التذكرة كما تكون سهلة الرسوم .

وبناء على هذه المعايير الخمسة وضعت المفاهيم التالية فى عام ١٩٦٠/٦١ باستخـــــدام بعض العناصر الاساسية الموجودة فى النماذج القياســـــية الالمانية الخاصـــــة بتكنولوجيا الكيمياء (DIN 7091) وتستخدم هذه الرسوم فى العديد من المجالات دون الحاجة لاجراء تغييرات ضرورية كما ثبت ضرورتها وملائمتها للعمليات الخاصة بالتحليل فى المعمل .

الرموز والقواعد Symbols and Rules :

جميع العينات الاصلية والعينات الصغيرة Subsamples والفصلات Fractions تمثل بمثلثات وجميع طرق التحليل بمربعات ، جميع مساحات المادة تمثل بالاسهم (شكل ١) . عمليات التحليل توصف ببعض العناصر الاضافية التي يمكن ان تدمج بطرق عديدة (شكل ١ رقم ٤ – ١٠) . الخط الرأسي يمثل الفصل الطبيعي لوسطين موجودين والقسمين الناتجين في المربع يمثلا الوسطين والتي يمكن وصفهما بالعناصر S (9, I). لو تكون الوسطين بوسائل اخرى للفصل الجزئي يوصف النظام بخط افقي بعلامات متقاربة للوسطين . ويستخدم القطر لوصف جميع التفاعلات الكيميائية كما يستخدم ايضا الرموز S (I 9,) . ومن النادر ان تستخدم الرمزين الاخيرين منفردين ولكنهما يستخدما غالبا مع بعضهما او مندمجين مع رمزين آخرين . ويرمز للوسط المتحرك بنصف سهم ، والخط المزدوج يرمز الى وجود مواد اضافية التي تساعد في الفصل كما في حالة المذيب او التفاعل الكيميائي مع جوهر كشاف .. وفي النهاية توصف جميع القياسات بشكل ثماني الاضلاع يزود ايضا بالكمية المقدرة ووحدتها والاختصارات الشائعة لها .

الاساسيات الضرورية لأساليب الفصل الحديث يمكن ان توصف بوضوح بدمج بعض العلامات والرموز (شكل ١ رقم ٢ ، ٦ ، ٧ ، ٨ ، ٩) وبطريقة تجعل المدخلات والمخرجات الخاصة بمادة التحليل واضحة كأشياء مرئية في خريطة التحليل Flow sheet . ولعمل تفريعات وتوصيلات بين العمليات المختلفة تستخدم علامات مناسبة لتوضيح التشابك والارتباط بين العمليات كوحدة متكاملة (شكل ١ رقم ١١ ، ١٢) .

وليكن معلوما ان القواعد والرموز السابق الاشارة لها اجبارية والرسم التخطيطي المقترح يمثل الهيكل الاساسي لاى حالة ويمكن استكمالها واضافة عناصر اخرى .. مثال ذلك استخدام الضغط الزائد او التفريغ ويسمح كذلك باية تفسيرات شفوية عند الحاجة .

الاستخدامات Application :

القواعد الخاصة بعمل الشكل التوضيحي لطريقة التحليل تعطى الفرصة للاختيار بين التفصيل والاختصار وهو يفيد في اغراض مختلفة داخل معامل التحليل .

*** اسلوب وصف العمل داخل المعمل Procedure descriptions for lab. work**

في العمل اليومي يلعب الرسم التوضيحي دور التذكرة المختصر لحظة العمل خاصة ما يتعلق بحجم العينات والفصلات والقياسات وغيرها (شكل ٢) . ويحتوى الرسم كذلك على قائمة مرئية ومسلسلة زمنيا للاجهزة (الأقماع – المرشحات .. الخ) والكيميائيات المطلوبة (مذيبات .. جواهر كشافة .. وغيرها) في خطوات متتابعة للتحليل .

* تمثيل الطرق البديلة **Presentations of alternative methods**

فى بعض الاحيان تكون طرق تحليل المبيد معقدة وتمثل مشكلة نظرا لأن الطريقة المناسبة تعتمد على طبيعة العينات وتوفير الجهاز المناسب وغيرها من العوامل الاخرى . يمكن تمثيل الطرق البديلة فى رسم تخطيطى يستخدم فيه وسائل معينة مثل الرموز والعلامات الخاصة بقرار معين او حذف جميع الخطوات ذات الاهمية القليلة (شكل ٣) . وهنا توضح خطوات التحليل الضرورية بوضع خط تحتها ومن ثم تصبح نقاط القرارات الهامة والمؤثرة واضحة تماما .

* نماذج الطرق الالية **Flow patterns of automated methods** :

التدفق المستمر للمادة خلال النظم الالية مثال جهاز التحليل الذاتى Auto analyser (R) غالبا يحدث سوء فهم . لذلك فان نموذج الانسياب مع التاكيد على معدلات الانسياب تساعد فى توضيح وفهم الاسلوب الخاص بالتحليل (شكل ٤) .

استحدث اسلوب الشكل التخطيطى او انسياب خطوات التحليل لتسهيل مهمة القائم بالتحليل فى عمله اليومى وهو يحقق المتطلبات والمعايير التى ذكرت من قبل والرموز والقواعد قابلة للتغيير والاجتهاد مع تقدم التقنيات الخاصة بالتحليل .

ومن الافضل ان توضع الاشكال الأربعة كما هى وباللغة الانجليزية .

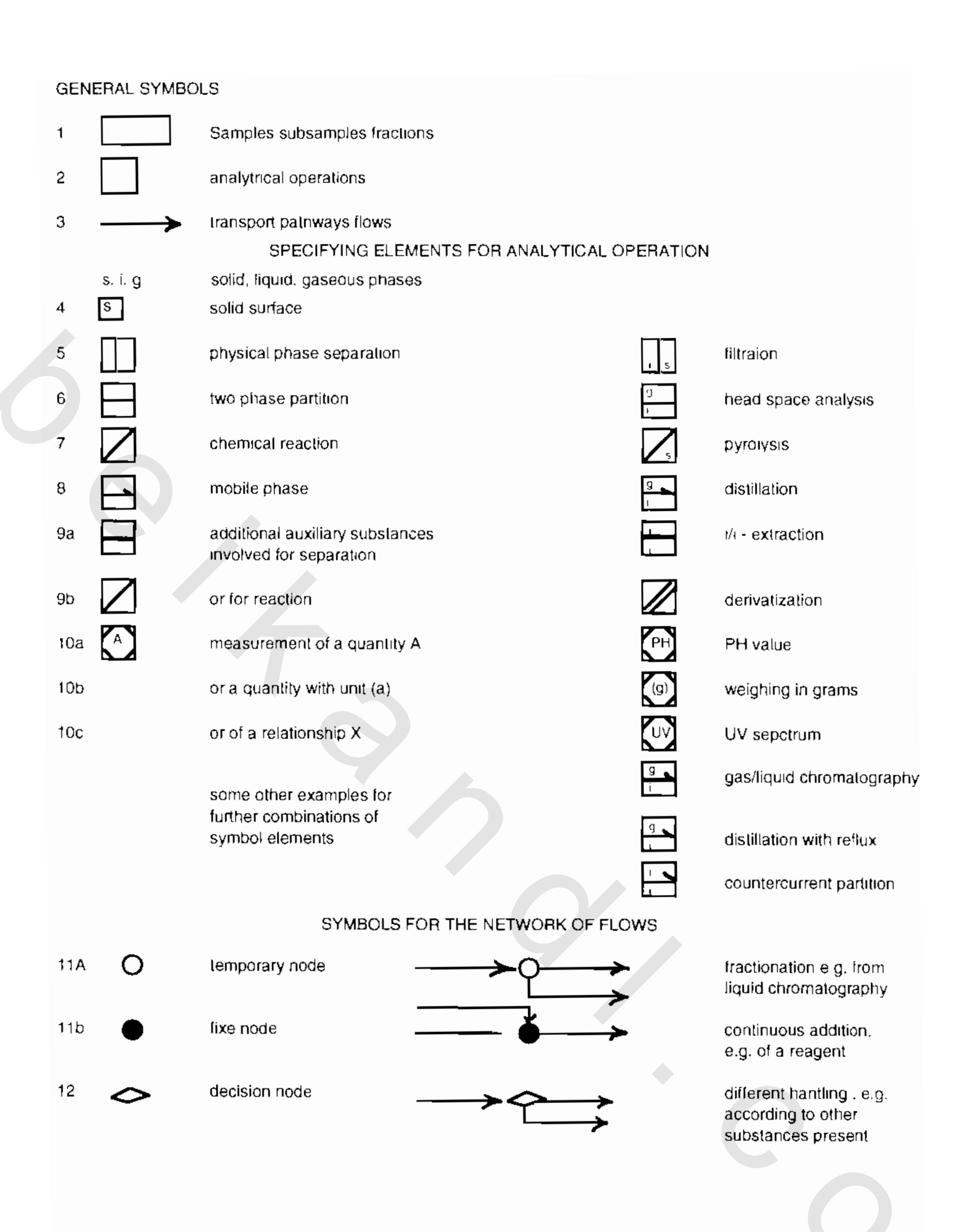


Fig. 1. Construction of symbols from 12 basic elements and examples of application.

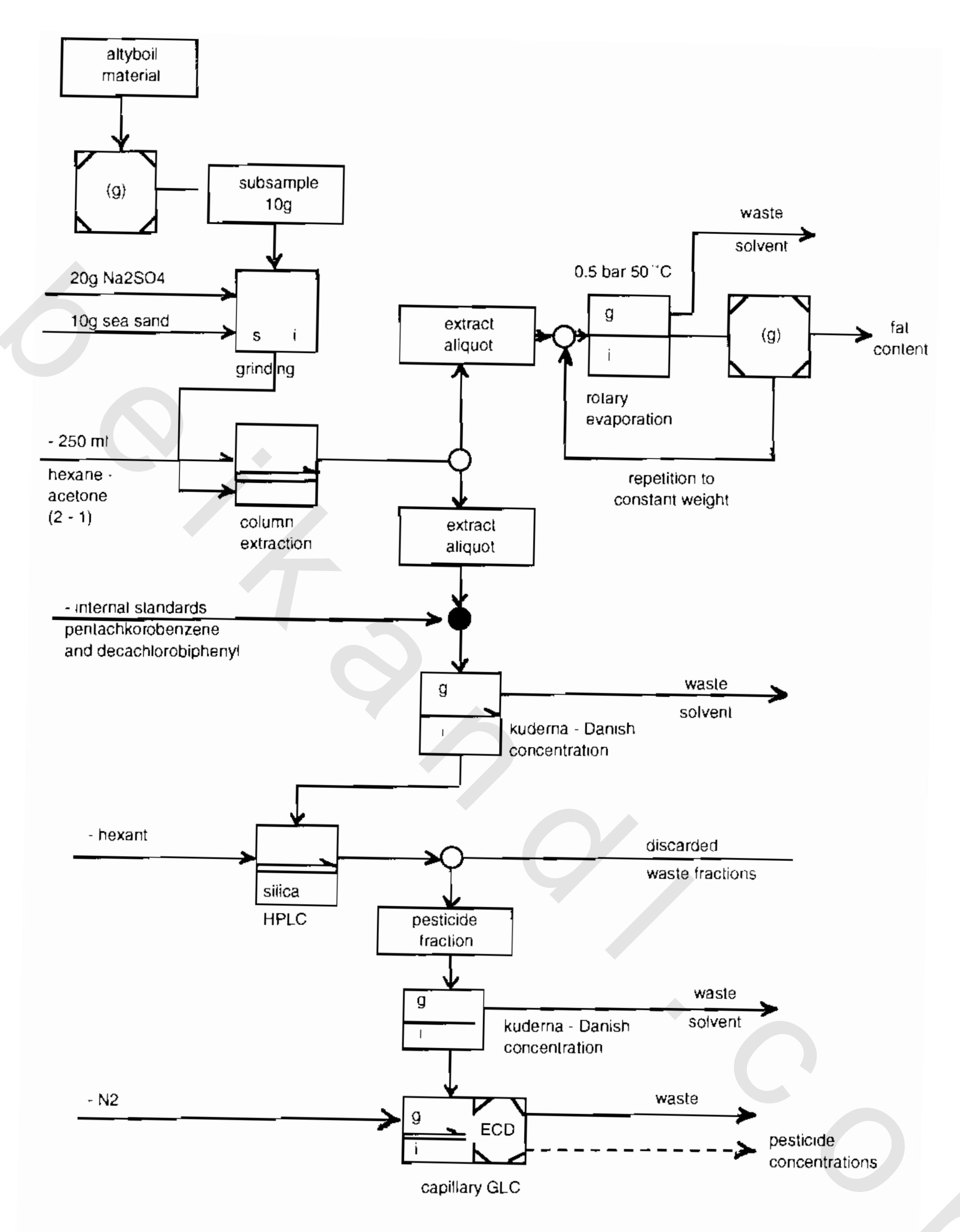


Fig. 2. Example of a procedure description with details for laboratory work : Analysis of lipophilic organochlorine pesticides in fatty biological material.

تحليل المبيدات الكلورينية العضوية المحبة للدهون فى المواد الحيوية .

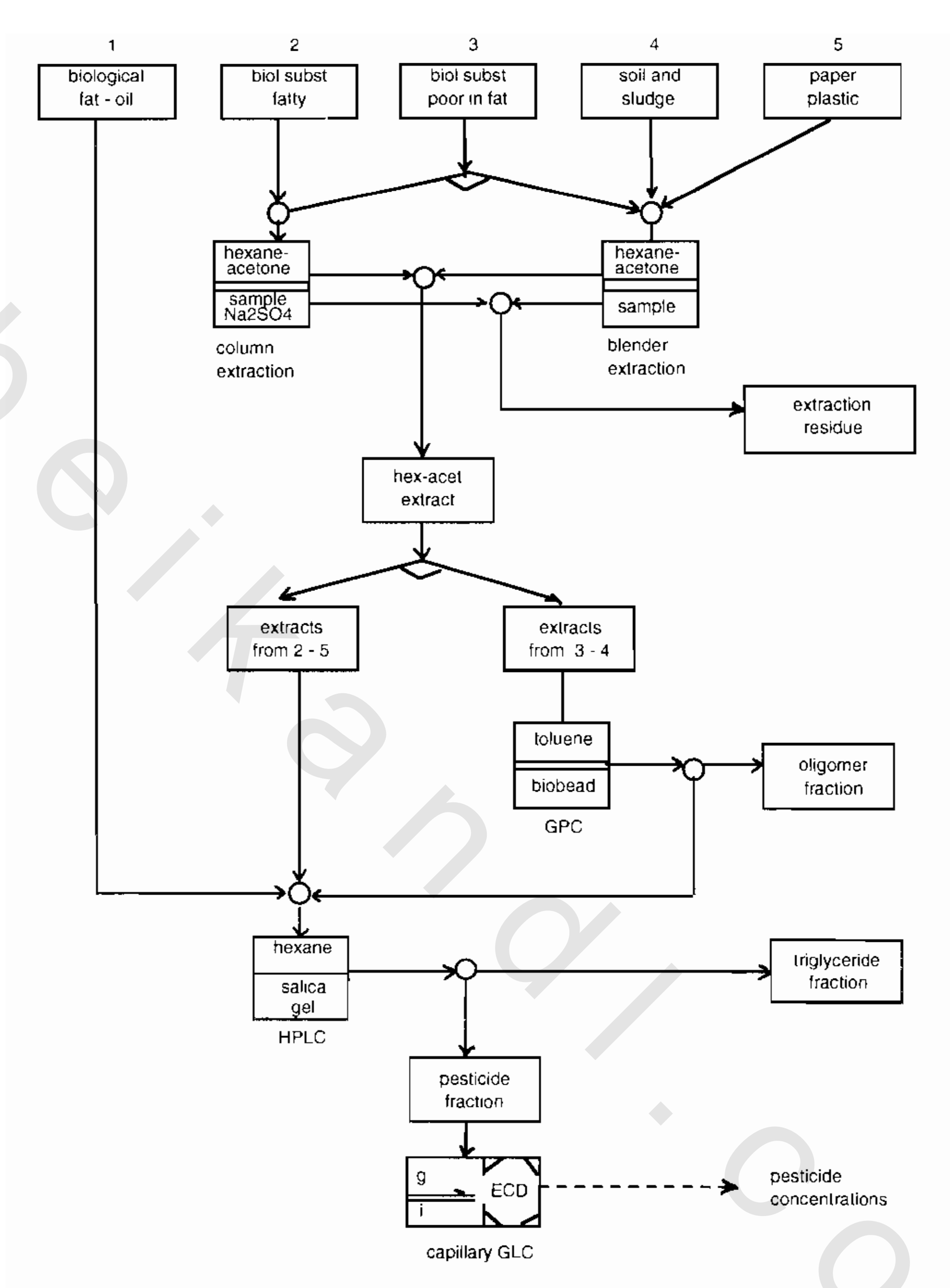


Fig. 3. Example of a summarizing presentation of alternative methods : Analysis of organochlorine pesticides in different sample materials. (Steps of minor limportance omitted).

مثال يلخص إستعراض الطرق البديلة

تحليل المبيدات الكلورينية العضوية فى مختلف الأوساط (ثم حزف الخطوات قليلة الأهمية)

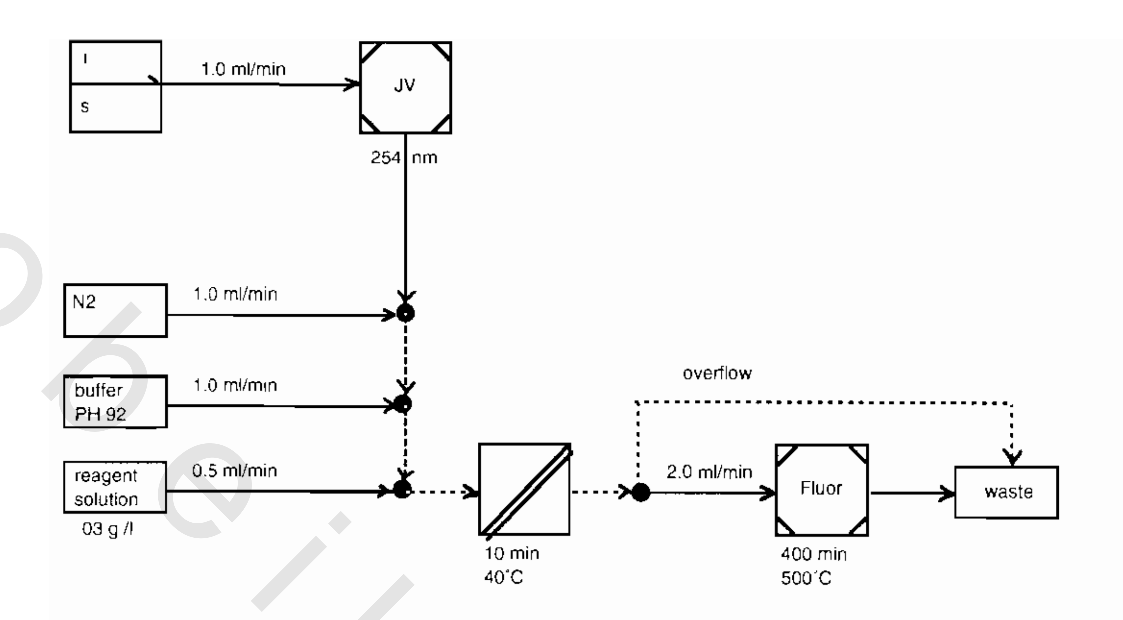


Fig. 4. Example of a flow diagram for automated methods :
Post-column reaction of anilines with fluorescamin for HPLC.
(Dashed line : air-segmented flow)

مثال توضيحى للطرق الآلية

تفاعل ما بعد العمود للأنيلات مع الفلورسكابين لجهاز الكروماتوجرافى فائق المقدرة

(الخط المنقط المتقطع يمثل إنسياب حلقات الهواء)

الفصل الحادى عشر

طرق الكشف عن المبيدات بالوسائل الاسبكتروفوتومترية

* المقدمة والنظرية (الاساس النظرى) .
* التعريفات والمصطلحات الخاصة بالاسبكتروفوتومترى .
* قوانين التقدير الكمى اللونى للمبيدات .
  - قانون بوخز ولامبرت .
  - قانون بيير .
* العينات والتقديرات القياسية .
* اساسيات الطرق اللونية .
* اسباب استخدام الطرق اللونية والأشعة فوق البنفسجية .
* الاستخلاص والتنقية .
  ١ - ملاحظات عامة .
  ٢ - اعتبارات خاصة للتحليل بالاشعة فوق البنفسجية .
* طرق تجهيز البيانات والمنحنيات القياسية .
* اصطلاحات خاصة باجهزة القياس اللونية .
* امثلة للاجهزة المستخدمة فى التقدير اللونى .
  ١ - جهاز قياس الالوان المرئية .
  ٢ - جهاز ايفيلين .
  ٣ - جهاز اسبكتروفوتومتر بوش - لومب سبكترونيك ٢٠
  ٤ - جهاز بكمان دى يوسبكتروفوتومتر .
* القياس اللونى بالاشعة تحت الحمراء الاسبكتروفوتومترية .



طـرق الكشـف عن المبيدات بالوســائل الاسبكتروفوتومترية

« الطيف ضوئية » Spectrophotometric

* **المقدمة والنظرية (الاساس النظرى) :**

لأسباب عديدة تغطى طرق التحليل التى تستخدم الوسائل الطيف ضوئية كلا من المجالات الخاصة بالاشعة فوق البنفسجية Ultraviolet والضوء المرئى Visible للطيف . والقواعد التى تحكم هذين المجالين متماثلة تقريبا كما ان التعريفات الخاصة بهما تصلح لها معا . والاختلافات الحقيقية بينهما تتمثل فى قياس اللون المرئى فى مقابل امتصاص الاشعة فوق بنفسجية بسبب تركيب التردد Resonance . ببساطة يمكن القول ان اساس الطرق الكيميائية اللونية للتحليل تتضمن معاملة المادة فى المحلول بجوهر كشاف يعمل على تكوين لون يرتبط امتصاصه بتركيز المادة المقدرة . عادة ما تكون العلاقة بين الامتصاص الضوئى Optical absorbance وتركيز المادة خطية . ان امتصاص الضوء فى المنطقة فوق بنفسجية للطيف يتحكم فيها نفس اعتبارات امتصاص الضوء المرئى . ان التركيز الخاص بالتقدير فى الاشعة فوق البنفسجية يقل كثيرا عنه فى حالة الضوء المرئى . كمية اللون للعينة مجال التحليل يقاس بعدة وسائل مثل اجهزة قياس الالوان . يتطلب التحليل الحالى الكشف عن المخلفات تقدير كمية ضئيلة للغاية مما يستلزم حساسية شديدة وعالية للأجهزة ولا يتحقق هذا الا فى نطاق الضوء غير المرئى بالاشعة فوق البنفسجية ويستخدم الاصطلاح قياس الطيف الضوئى Spectrophotometry للتعبير عن هذا النوع من القياس تمييزا له عن التحليل الضوئى العادى Photometry الذى يعتمد على قياس كثافة انتقال الضوء من خلال الطيف .

الضوء عبارة عن اشعاع مغناطيسى يحتوى اطوال موجات مختلفة او سيل من الفوتونات ذات الطاقة المختلفة ويستخدم الشعاع الكهرومغناطيسى فى التحليل الطيف الضوئى « سبكتروفوتومترى » عند اطوال الموجات التالية مقاسة بالنانوميتر أو الانجستروم على النحو التالى :

١٠ - ٢٢٠ نانوميتر مجال الاشعة فوق البنفسجية .

٢٢٠ - ٣٨٠ ،، مجال الاشعة القريبة من فوق البنفسجية

٤٠٠ - ٧٠٠ ،، مجال الاشعة المرئية

للبحاث * Herman F. Beckman بمعمل بحوث التوكسيكولوجى ومخلفات المبيدات - جامعة كاليفورنيا - دايفز - كاليفورنيا .

و * Robert B. Bruce شركة روبينز - ريشمون - فرجينيا .

و * D. MAC Dougall مؤسسة كيماجرو - كانساس سيتى - ميسورى - الولايات المتحدة الامريكية .

١,٧٥٠ – ٢,٥ ميكرون قريب من تحت الحمراء

٢,٥ – ٢٥ ،، الاشعة تحت الحمراء التقليدية

٢٥ – ٣٠ ،، بعيد عن الاشعة تحت الحمراء

النانوميتر = ١٠^−٩ والواحد نانوميتر يحتوى على ١٠ انجستروم

وقبل الخوض فى التفصيلات اود التذكرة ان الطرق الاسبكتروفوتومترية تشتمل على طرق الاشعة تحت الحمراء IR والطرق اللونية والاشعة فوق النفسجية UV وجميعها تعنى قياس ما يحدث من تأثير لتداخل الاشعاع الكهرومغناطيسى مع المادة محل التقدير بحيث يكون موضع امتصاص الاشعاع من خصائص المادة مما يفيد فى التعرف وتحديد المركب كما ان التركيز يمكن تحديده من درجة امتصاص الإشعاع .

*** التعريفات والمصطلحات الخاصة بالاسبكتروفوتومترى :**

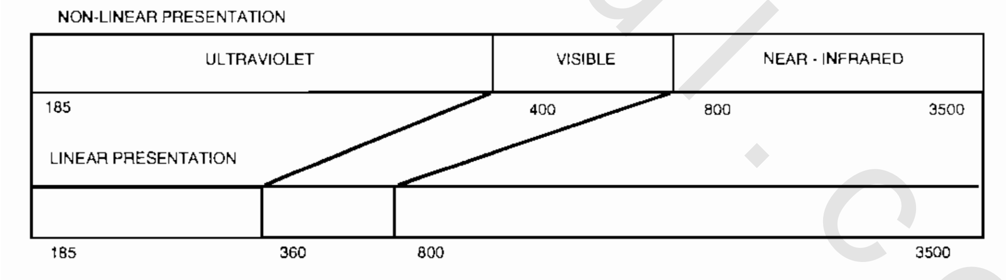
الامتصاصية Absorbtimetry تعنى قياس المدى الذى تستطيع المواد امتصاص الطاقة الاشعاعية عند اطوال موجة معينة خاصة . الطاقة الاشعاعية عادة تقسم الى ثلاثة مناطق تغطى المجالات التالية :

الأشعة فوق البنفسجية ١٨٥ – ٤٠٠ نانوميتر

الضوء المرئى ٤٠٠ – ٨٠٠ نانوميتر

الأشعة تحت الحمراء ٨٠٠ نانوميتر – ١٦ ميكرون

وغالبا ما يشار الى منطقة الاشعة فوق البنفسجية اقل من ٢١٠ نانوجرام على انها "Far-UV" والمنطقة من ٨٠٠ نانوميتر وحتى ٣٥٠٠ نانوميتر تسمى "Near IR" (شكل – ١) .



شكل (١) : أطوال موجات الطيف من بعيد الأشعة فوق البنفسجية إلى قريب تحت الحمراء

تعتبر المنطقة من ٤٠٠ – ٨٠٠ نانوميتر أكثر من غيرها استخداما فى التقدير اللونى . معظم اجهزة قياس الالوان تغطى هذا المدى بمساعدة المرشحات الضوئية ولكنها لا تصلح بكفاءة فى نهاية المدى . القياس اللونى يتميز عن القياس الاسبكتروفوتومترى المرئى حيث ان الأول colorimetry يعنى قياس كمية الضوء التى تمتصها المادة بالمقارنة باللون القياسى . القياس الاسبكتروفوتومترى

من جهة اخرى يعنى استخدام خلية ضوئية فى الجهاز ثم تتحول الاستجابة من الخلية الضوئية الى بعض الاشارات التى يمكن قياسها . التحليلات التى تستخدم الاشعة فوق البنفسجية يجب ان تكون طيف ضوئية بسبب طبيعة الطاقة .

يمكن تمثيل الطيف الممتص بواسطة مادة معينة عن طريق توقيع ورسم علاقة بين الامتصاص وطول الموجة . التغير السريع فى الامتصاص مع التغير فى طول الموجة يوجد منطقة امتصاص قصوى تسمى منطقة الامتصاص المتخصصة أو الاختبارية Detective or specific absorption . طول الموجه الذى يمد بالامتصاص خلال الكثافة القصوى يسمى اقصى إمتصاص Maximum absorption اما ادنى إمتصاص minimum Absorbance يمثل طول الموجة التى يحدث عندها اقل امتصاص . فى حالة المادة التى يحدث فيها امتصاص ذات قيمة تعلو وتنخفض بسرعة يقال عن الطيف المسجل ذو التركيب الدقيق Fine structure . من احسن الامثلة على التركيب الدقيق طيف ابخرة البنزين .

* قوانين التقدير الكمى اللونى للمبيدات :

قانون بوخرو لامبرت Boucuer and Lambert :

لا يعتمد نسبة الاشعاع أو الضوء الذى يمتص بواسطة وسط شفاف على شدة الضوء الواقع عندما تظل نوعية الاشعاع دون تغيير وكل طبقة متتابعة من الوسط تمتص جزء مساوى من الضوء المار من خلاله . هذه الحالة يعبر عنها بالمعادلة :

$$(1) \quad ..... I = Io\ l^{-ad}$$

I = شدة الضوء المار
Io = شدة الضوء الحادث
a = معامل امتصاص الوسط
d = سمك طبقة الامتصاص بالسنتيمتر

يمكن التعبير عن هذه العلاقة بالمعادلة الآتية :

$$(2) \quad ...\ Log\left(\frac{Ia}{I}\right) = ad$$

واذا كتبت المعادلة (٢) مع اللوغاريتم الاساسى (١٠)

$$(3) \quad .\ Loc\left(\frac{Ia}{I}\right) = kd$$

والمعادلة (٣) تعبر عن معامل الامتصاص Extinction Coefficient

$$\infty = 2.303\ k$$

قانون بيير Beer's Law :

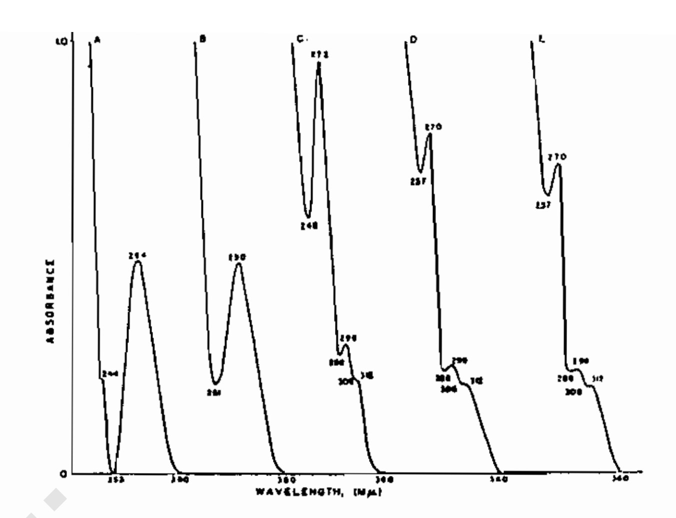
يعتبر امتداد لقانون لامبرت ومفاده ان الامتصاص لا يتناسب مع عدد جزئيات مادة الإمتصاص الموجودة فى مسار الضوء ولذلك يدخل عامل التركيز فى المعادلة (٣) بحيث يعبر عنه بالمعادلة :

$$. \text{Log}\left(\frac{Ia}{I}\right) = kcd \qquad (٤)$$

حيث c = التركيز وعادة يعبر عنه بالمول فى اللتر . عندما يكون التركيز ١ مول فى اللتر وطول المسار ١ سم يطلق على K معامل الامتصاص الجزيئى ويكتب E أو ٤ ولقد استخدم الاصطلاح k, cm 1% بواسطة العديد من البحاث خاصة عندما يكون الوزن الجزيئى للمركب غير معروف للحصول على قيمة الإمتصاص . وقد استخدم هذا الإصطلاح ايضا مع العديد من المركبات المعروفة حيث يعطى اساس للمقارنة . استخدام الاصطلاح يعطى قياس سريع لحساسية طريقة التحليل . عند محاولة الربط بين قيمة الامتصاص لطبقة ١ سم فى محلول ١ ٪ لمركب معين مع مركب آخر قيس بنفس الاسلوب يمكن الحكم على الحساسية النسبية للطريقة . اذا كان الوزن الجزيئى للمركب تحت الاختبار معروف يمكن تعريف وتقدير معامل الإمتصاص الجزيئى بالمعادلة التالية :

$$(٥) \quad E^{1\%}_{icm} \times \frac{\text{Mol. wt}}{10} = k$$

القيمة المدونة تصلح مع طول الموجة التى تم عندها القياس ولا تصلح لأية اطوال موجية اخرى . الامتصاص يمثل لوغاريتم Io / I وهو يساوى (I / T) والنفاذية (T) تساوى Io / I ويعبر عنها بالنسبة المئوية T x 100 والشكل (٢) يمثل منحنيات امتصاص الروتينون والمركبات المرتبطة به . المنحنيات توضح التغير فى الامتصاص مع التغير فى طول الموجة ومواضع الامتصاص الاقصى والادنى . تركيز المركبات الموجودة فى الشكل ١٠ ميكروجرام /ملليلتر ومسار الضوء ١ سم للحصول على هذه القياسات . يمكن تقدير معامل الامتصاص عند طول موجى من معادلة (٤) مع اقصى امتصاص .

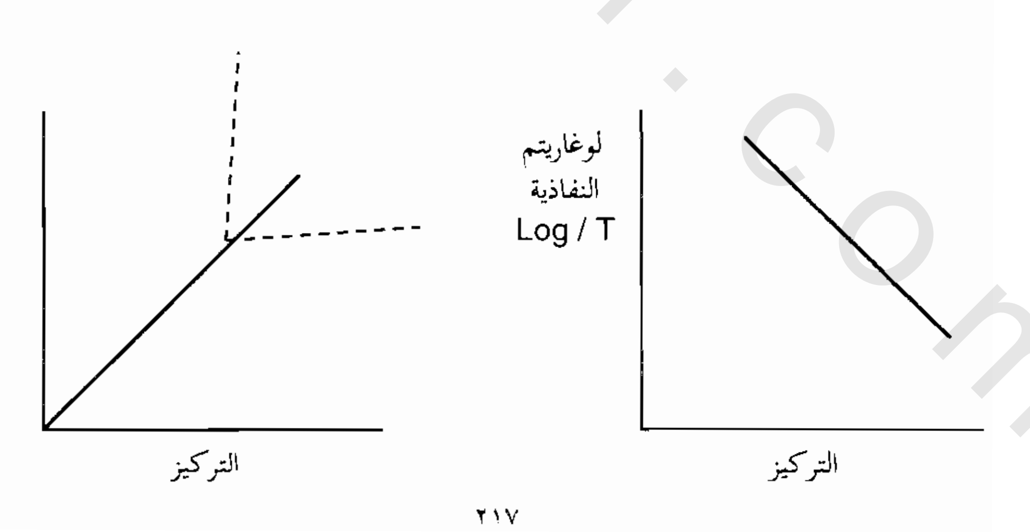


شــكل (٢) : منحنيـــات توضح تأثيـر التغيـر فى طول الموجـــة على قيـــم الإمتصــــــاص (جميع المحاليل ١٠ ميكروجرام/ملليلتر فى الإيثانول)

A = روتينون　　　B = ديجيدروتينون ٢ = توكسيكارول

D = ديجيولين　　　E = تيفرومسين

ونتساءل متى يخطئ قانون بيير ؟ .. الاجابة تتمثل فى ان الخطأ يحدث اذا حدث تأين-Ion ization أو تفكك dissociation أو تجمع association أو حدثت تغيرات فى طبقة المذاب عند تغير التركيز وذلك يؤدى إلى الحصول على علاقة خط مستقيم بين الكثافة الضوئية والتركيز او بين النفاذية والتركيز .



* العينات والتقديرات القياسية Standards of Reference :

يجب ان تؤخذ سلسلة من التركيزات للمركب محل التحليل وتقدر بنفس الطريقة وتؤخذ قيم الامتصاص واللون كأساس لعمل منحنيات قياسية يمكن استخدامها لتعريف وتحديد التركيزات الغير معلومة من نفس المركب .

اساسيات الطرق اللونية Colorimetric والاشعة فوق البنفسجية Ultraviolet :

يجب ان تذاب عينة التحليل فى مذيب نقى خالى من اى مادة تكون لها المقدرة على امتصاص الضوء على نفس طول الموجة الخاصة بالمركب تحت القياس . هذا المطلب يعتبر اساسيا لدقة الطرق الاسبكتروفوتومترية . يجب الا يحتوى المحلول على مواد متداخلة قد تتفاعل مع الجوهر الكشاف الذى يكون اللون عند او بالقرب من طول موجة امتصاص المادة محل التحليل . ولنضرب مثلا يتمثل فى تحليل مبيد الباراثيون من خلال امتصاصه فى منطقة الاشعة فوق البنفسجية اذا كان المحلول النهائى محل التحليل به أية مركبات ذات تركيب متماثل فان قيمة الامتصاص المتحصل عليها لا تكون ممثلة تمثيلا حقيقيا لكمية البارثيون . فى هذا الوضع تجرى خطوة تنظيف للعينة قبل القياس النهائى فى جهاز الاسبكتروفوتومتر ومثال ذلك الطرق الكروماتوجرافية . والطريقة يجب ان تزيل وتفصل اى مبيدات اخرى من المحلول تحتوى على تركيب بنزيتويد او اى مادة نباتية من المستخلص تمتص فى نطاق الاشعة فوق البنفسجية على ٢٨٠ نانوميتر .

* اسباب استخدام الطرق اللونية والاشعة فوق البنفسجية :

Reasons for colorimetric and ultraviolet procedures

هناك حاجة مستمرة لتطوير طرق التحليل الاسبكتروفوتومترية جنبا الى جنب وبنفس القدر من الاهمية لتطوير الطرق اللونية المرئية وتلك فى نطاق الاشعة فوق البنفسجية . وليكن معلوما ان الحساسية من اهم العوامل فى تقدير صلاحية الطريقة . العديد من الطرق اللونية تستطيع الكشف عن كميات فى حدود ١٠ ميكروجرام فى التحليلات الروتينية واقل من ذلك فى التحليلات الدقيقة . طرق الكشف التى تعتمد على الاشعة فوق البنفسجية اكثر حساسية بمقدار عشرة امثال او أكثر تبعا لطول موجة الإمتصاص . المركبات ذات الامتصاص الاقصى بالقرب من اقل تدريج موجى يمكن تقديرها بشكل اكثر حساسية من تلك المركبات التى تقع بالقرب من الضوء المرئى اذا وجدت ملوثات فى محلول التقدير تتداخل مع التقدير تسبب مشاكل فى الامتصاص مع زيادة الحساسية . يمكن زيادة الحساسية بزيادة مسار الضوء الفعال خلال المحلول . الخلايا ذات المسار الضوئى (١٠ سم) متاحة حاليا وهى لا تتطلب زيادة مناظرة فى حجم العينة . يمكن زيادة الحساسية بتركيز العينة لحجم صغير مما ادى الى إيجاد خلية جديدة ١٠٠ ميكروليتر تعطى ١ سم مسار ضوئى .

* متطلبات اخذ القياسات Sampling requirements :

طريقة اخذ العينات وتقسيمها وتخزينها وتجهيزها تتميز باسلوب معين تبعا لطريقة التحليل

حيث ان الطريقة اللونية والاسبكتروفوتومترية تختلف عن الطرق الاخرى خاصة فى مجال الاستخلاص كما ان الطرق الطيف ضوئية تتطلب خطوة اكثر فى التنظيف والتنقية وكذلك اخذ الحجم المناسب من العينة .

* الاستخلاص والتنقية Extraction and cleanup

١ – ملاحظات عامة General remarks :

من المعلوم ان طريقة التحليل الخاصة تصمم على اساس مبيد معين والمحصول معين واية تغيرات تتطلب تحوير فى الطريقة الاصلية ، ومع هذا يمكن القول ان طرق الاستخلاص تجرى بشكل روتينى ولا جدال فيها ، اما طرق التنقية تتطلب دائماً جديد او تحوير عما هو منشور واى تهاون او تجاهل لأى خطوة بشكل غير مدروس او محسوب قد يؤدى الى قلة أو خطأ التحليل . مازالت مقولة Zweig وزملاؤه عن امكانية استخدام جهاز الكروماتوجرافى الغازى فى فصل المبيد قبل التقدير النهائى صالحة حتى وقتنا هذا وبعد مرور اكثر من ثلاثين عاما . ومن امثلة نجاحات الكرماتوجرافى الغازى تنظيف مستخلصات البطاطس قبل تقدير مركب حامض نفثالين اسيتيك اسيد وتنظيف مستخلصات فول الصويا قبل تقدير استر داى كلور امينو بنزويك اسيد وتنظيف مستخلص الكمثرى قبل تقدير مبيد الثيودان بالاشعة تحت الحمراء .

هناك طرق تنظيف اخرى تلائم مخاليط بعض المبيدات وهناك الكثير من الطرق الغير صالحة . لقد لاقى اسلوب عمود الكروماتوجرافى عناية واهتمام كبيرين واثبت نجاحات بدرجات متفاوتة ومن احسن الاعمدة التى ثبتت نجاحها عمود الفلوروسيل لفصل المبيدات الحشرية . يجب تجديد مادة الادمصاص بعد عدد من العمليات بسبب انخفاض الكفاءة مع تكرار التنظيف . لا يصلح هذا العمود لجميع المبيدات او جميع المستخلصات . استخدم عمود الفحم المنشط بنجاح فى فصل الديلدرين والـ د د ت والهبتاكلور والثيودان والهبتاكلور ابيوكسيد على المحاصيل المختلفة مثل التفاح والكمثرى والتوت والبرسيم ويشترط مع هذا العمود استخدام البنزين كمذيب مع الاحتفاظ بالنسبة بين العينة النباتية والمذيب ثابتة . التوزيع الجزئى بين سائلين نجحت لحد كبير فى فصل الدهون من المبيدات الحشرية حيث يستخدم مذيبان غير قابلين للامتزاج فى قمع الفصل او استخدام الكروماتوجرافى .

٢ – اعتبارات خاصة للتحليل الاشعة فوق البنفسجية (UV) :

التقديرات التى تعتمد على الاشعة فوق البنفسجيية تتطلب تنظيف عالى ومتميز للعينات بما يضمن عدم وجود اية شوائب تمتص الضوء فى منطقة الطيف الخاصة بالمبيد . يجب اختيار المذيب المناسب الذى يسمح بالمرور الكامل للضوء .. والجدول التالى يوضح الموجه الخاصة فوق

جدول (١) : المذيبات المناسبة للتحليلات الاسبكتروفوتومترية .

المذيب	نطاق الاشعة فوق البنفسجية
اسيتون	٣٣٠
اسيتونتريل	٢١٠
بنزين	٢٨٠
داى فينيل امين (بروموفورم)	٣٦٠
كحول البيوتايل	٢١٠
رابع كلوريد الكربون	٢٦٥
كلوروفورم	٢٤٥
سيكلوهكسان	٢١٠
٢,١ - داى كلوروايثان	٢٣٥
داى كلورميثان	٢٣٥
ن . ن - داى ميثيل فورماميد	٢٧٥
ايثيل ايثر	٢١٠
ميثانول	٢١٠
ميثيل سيكلوهكسان	٢١٠
ميثيل فورمات	٢٦٠
نيروميثان	٢٨٠
كحول ايزوبروبيل	٢١٠
بيريدين	٣٠٥
تتراكلوروايثيلين	٢٩٠
٢ ، ٢ - ٤ تراى ميثيل بنتان	٢١٠

الفوق بنفسجية لكل مذيب ومنها يتضح ان افضل المذيبات ملاءمة لهذا النوع من التحليل هو الاسيتونتزيل وكحول البيوتيل والسيكلوهكسان والايثيل ايثر والميثانول وهى تفيد مع معظم المبيدات . كذلك يجب ان يكون المذيب الذى يستخدم فى الاستخلاص مختارا بعناية بحيث يكون قادراً على فصل المبيد من المواد الموجودة معه كما يجب الا يتداخل مع التحليل النهائى فى نظامى الاشعة فوق البنفسجية .

* هذه الاطوال الموجبة تمثل الموجة التى يكون امتصاص طبقة ١ سم يساوى الوحدة .

* تفاعلات الالوان Color reactions :

اجريت محاولات كثيرة لتحديد المجموعا الفعالة التى يمكن ان تستخدم فى التحليلات اللونية للمبيدات وقد تحققت نجاحات كثيرة في هذا الخصوص ومثال ذلك مجموعة الامين العطرية . التفاعل العام يتمثل فى اجراء تفاعلات الآزو الثنائية Azotize للأمين العطرية التى ترتبط بالمادة الملونة .

ان تفاعل الانيلين مع نتريت الصوديوم فى الوسط الحامضى يعطى بنزين ديازينوم كلوريد الذى يرتبط مع ن (١ – نافثيل) ايثيلين داى امين ليكون مركب ملون فى المحلول وهو غالبا لون وردى الى قرنفلى يمتص على طول موجة ٥٤٠ ميكرون . هذا التفاعل يصلح مع العديد من المبيدات الحشرية ومبيدات الحشائش والمواد الاضافية للأعلاف . ولقد تم تطوير التفاعل ليلائم تحليل العديد من المركبات المحتوية على مجموعة النيترو حيث تختزل إلى مجموعة الامين ثم يجرى التحليل .

من التفاعلات العامة نترتة حلقة البنزين كما فى الـ د د ت والعديد من المركبات المرتبطة به . اذا كانت الحلقة بها اكثر من مجموعتان نيترو او اكثر يمكن ظهور تفاعل لونى . من المعروف مثلا ان مركبات الميتا – داى نيترو تعطى الوان عندما تذاب فى الاسيتون وتعامل بالقلوى وهذا ما يعرف بتفاعل Janovsky ولقد استخدم هذا التفاعل بنجاح مع العلائق والمواد الاضافية والمبيدات وعلى نفس المنوال فان المركبات التى عليها مجموعة احلالية للنيترو على حلقة البنزين تعطى لون اصفر فى الوسط القلوى .

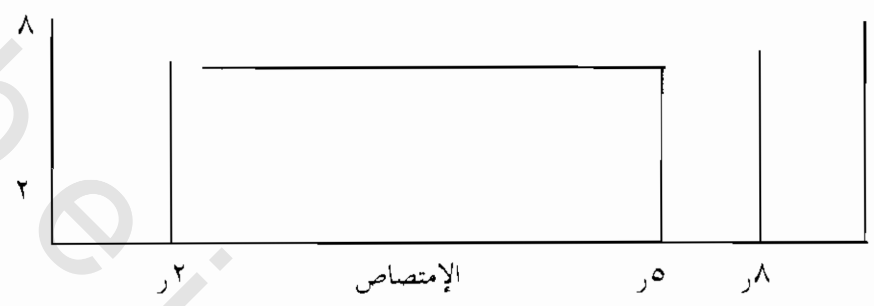
يمكن إستغلال مجموعة الايدروكسيل على حلقة البنزين فى التفاعلات اللونية بشرط عدم احلال الوضع بارا بالنسبة لحلقة البنزين او يحتل بمجموعة متحركة مثل الهالوجين او الكربوكسيل او الهيدروكسيل او الميثوكسيل او حمض السفلونيك . يتضمن التفاعل تكثيف الحلقة مع ٤ – امينو انثيبيرين . ان احلال الوضع بارا بمجاميع الكيل – ازيل – نيتروبنزين – نيتروزو او الدهيد توقف التفاعل .

*** العلاقة بين طول الموجة والكثافة الضوئية وكذلك العلاقة بين طول الموجة والنفاذية :**

يمكن تمثيل مجال الامتصاص للمادة محل الاختبار وذلك برسم العلاقة بين طول الموجة والكثافة الضوئية Optical density (o) فعندما يحدث تغير سريع فى الامتصاص مع التغير فى طول الموجة مؤديا الى ظهور اقصى امتصاص يطلق عليه كما سبق القول الامتصاص النوعى Specific absorption ويطلق على طول الموجة بطول موجة اقصى امتصاص Maximum absorption .. ونكرر مرة اخرى ان طول الموجة التى يحدث عندها اقصى امتصاص هى التى يتم اختيارها لتقاس عندها كمية المادة الممتصة للضوء باستخدام جهاز الاسبكتروفوتوميتر . كما يلاحظ ان المرشح filter الذى يستخدم عن مقياس كمية المادة الممتصة للضوء فى جهاز قياس الالوان يعطى حزمة من اطوال الموجات بين ٣٠ – ٦٠ ميكرون .

نكرر التساؤل مرة اخرى عن السمك الامثل او المناسب للمادة الممتصة محل القياس بالطرق اللونية ؟

لقد اتضح كما هو مبين فى الرسم التالى ان احسن النتائج امكن الحصول عليها فى حالة السمك الامثل فى مدى الكثافة الضوئية .O.P من ٠,٢ - ٠,٦٥ ومن ثم يجب ضبط تركيز المادة او سمك طبقة المادة الممتصة على هذا الاساس .



*** اعتبارات متعلقة باللون المتكون فى التقديرات اللونية :**

ليست العبرة بالحصول على لون سواء مباشرة او بعد اجراء تفاعل كيميائى مع المبيد او تحويره او من جراء اضافة مادة ملونة ولكن الاهم توافر عدد من الشروط فى اللون المتكون والا كانت الطريقة اللونية غير صالحة ، ولقد شاهدت بنفسى احد الزملاء يختبر جميع المواد الملونة الموجودة فى المعمل بشكل عشوائى للحصول على طريقة لونية لبعض المبيدات وكان هذا خطأ كبير حيث لا بد من الالمام بكل المعلومات الخاصة بالتركيب الكيميائى والمواصفات الطبيعية والكيميائية واسس التفاعلات الكيميائية والطبيعية قبل البدء فى هذا العمل . ومن اهم شروط اللون المتكون (١) ان يكون ثابتا لمدة من ١٥ - ٣٠ دقيقة على الاقل بصرف النظر عن التركيزات ، (٢) يمكن الحصول على اللون كلما اجرى التفاعل وبنفس الاستجابة Reproducible ، (٣) ان يكون اللون متدرج مع التركيز وان يكون حساس لأية تغيرات بسيطة مع التركيز . وهناك العديد من العوامل التى تؤثر على ثبات اللون وتكرار حدوثه .. نذكرها فيما يلى :

- تأثير زيادة تركيز المادة محل التقدير والتحليل .
- تركيز الجواهر الكشافة وما اذا كانت طازجة او مخزنة .
- تأثير الحموضة فى الوسط وعلاقتها باللون .
- الوقت اللازم لتكوين اللون حتى يكون اللون ثابت .
- خطوات تكوين اللون وتتابع المراحل والتفاعلات .
- دور المذيب وطبيعته .
- دور حرارة الوسط والتفاعل اللونى .
- طرق التعريض والطرق الكيميائية التى تستخدم لاستبعاد التداخل .

* طرق تجهيز البيانات والمنحنيات القياسية :

١ - رسم العلاقة الخطية بين النفاذية (T) فى المائة على المحور الرأسى اللوغاريتمى مع التركيز على المحور الافقى العادى ، ترسم العلاقة على ورق نصف لوغاريتمى .

٢ - رسم العلاقة بين لوغاريتم النفاذية على المحور الرأسى مع التركيز على المحور الافقى (يتم الرسم على ورق عادى) .

٣ - رسم العلاقة بين الكثافة الضوئية (O.D.) على المحور الرأسى مع التركيز على المحور الافقى (يتم الرسم على ورق عادى) .

٤ - يمكن رسم العلاقة حسابيا باستخدام قانون الميل حيث $k = \frac{D}{C}$ وتوضع قيم K C

ويؤخذ المتوسط ، والتركيز يساوى $C = \frac{D}{K}$ حيث C = التركيز ، D = الكثافة اللونية .

* اصطلاحات خاصة باجهزة القياس اللونية Instrumentation :

١ - اجهزة قياس الالوان المرئية visual وهى تعنى الاجهزة التى تقيس كمية المادة الماصة للضوء بالمقارنة بالالوان القياسية ويجب ان يؤخذ فى الاعتبار احتمالات حدوث اخطاء .

٢ - اجهزة قياس الالوان من خلال الخلايا الضوء كهربية وفيها تستخدم خلية ضوئية ومرشح ضوئى للحصول على حزمة ضوئـــية من اطـــوال الموجات (٣٠ - ٦٠ ميكرون) Photoelectric Photometer .

٣ - اجهزة الاسبكتروفوتومتر وفيها تستخدم خلية ضوئية monochromator لعزل حزمة ضيقة جدا من الضوء .

٤ - اجهزة القياس الضوئى photometer وهو يقيس كثافة الضوء النافذ على امتداد الطيف وهى بذلك تختلف عن اجهزة القياس الاسبكتروفوتومترية .

٥ - اجهزة قياس اللهب الضوئى "Flame photometer" .

مصدر الضوء فى هذه الطريقة العينة نفسها حيث يوجد لهب بدلا من مصدر الضوء (اللمبة) حيث توضع المادة المراد قياسها فى اللهب فتعطى لون معين بينما فى الطريقة الاسبكتروفوتومترية تقوم العينة بامتصاص الضوء ولا تكون مصدرا له .

امثلة للأجهزة المستخدمة فى التقدير اللونى Instruments :

من المؤسف ان العديد من البحاث فى معامل تخليق المبيدات وغيرها يشيعون مقدرة فائقة وعلم وافر عن الاجهزة . وقد يكون ذلك صحيحا ولكنى اود توضيح ان متخصصى الاجهزة هم من درسوا هذا العلم والفن من البداية وتلقوا دورات متعددة بصفة مستمرة على كيفية استخدام

وصيانة الاجهزة ومما اساءني قول البعض « انا بتاع التحليل ، انا بتاع الـ HPLC... انا الوحيد اللى افهم فى تحليل المبيدات .. الخ » ذلك من المزايدات والمهاترات .. ولا خلاف بيننا ان الخبرة فى التحليل هى المطلب الاساسى ويتبعها التذوق والاحساس بالعمل الموكل للقائم بالتحليل .
واهيب فى هذا المقام بالزملاء فى مجال تحليل المبيدات الا يحملوا انفسهم ما هو خارج عن نطاق تخصصاتهم وفى معامل الكشف عن المخلفات يفضل بل من الضرورى ان نضطلع بمسئولية التحليل اناس مدربون جيداً بصرف النظر عن مؤهلاتهم العلمية ولا غضاضة فى ان نتعلم ونكتسب الخبرة على استعمال الاجهزة ، اما الصيانة فلها متخصصيها وفنييها .. ان ادعاء المعرفة يحجب عن المدعى فرص كثيرة للحصول عليها وليس عيبا الجهل بشئ ولكن الاكثر عيبا والمعيب ادعاء الالمام بالاجهزة واتمنى من الله سبحانه وتعالى ان يجئ اليوم الذى يعمل البحاث معا فى تعاون وتكامل المعامل . وفى هذا المقام اشير الى اهم الاجهزة المستخدمة فى التحليل اللونى :

(١) جهاز قياس الالوان المرئية Visual colorimeter :

ومنه جهاز Debosque colorimeter وقد سبق تعريفه وهى تقيس كمية المادة الماصة للضوء بالمقارنة بالوان ذات تركيزات متباينة .. وهى تعتمد على المعادلة :

$$D = Kcb$$

$$D = Kc_1b_1 = K_c2b_2$$

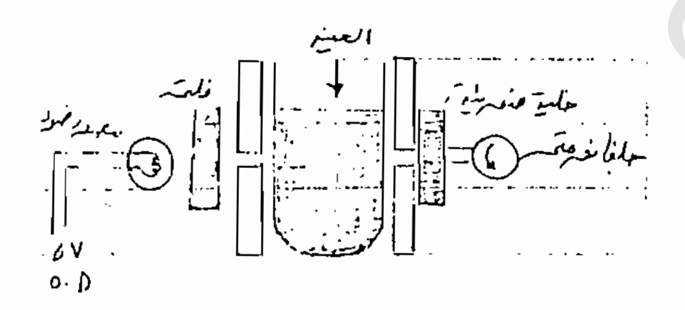
$$c_1b_1 = c_2b_2$$

$$\frac{c_1}{c_2} = \frac{b_2}{b1}$$

b1 b2

(٢) جهاز ايفيلين Evelyne colorimeter :

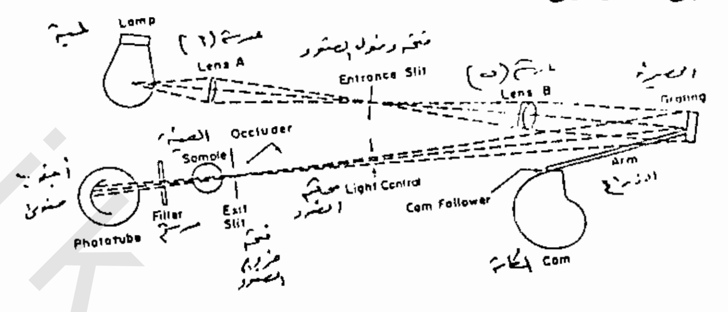
وقد سبق التعريف حيث يقيس كمية الضوء المار أو الممتص بواسطة العينة من خلال خلية ضوئية ومرشح ضوئى ومصدر للضوء .



(٣) جهاز اسبكتروفوتومتر بوش - لومب سبكترونيك ٢٠ :

Bausch and Lomb spectranic - 20

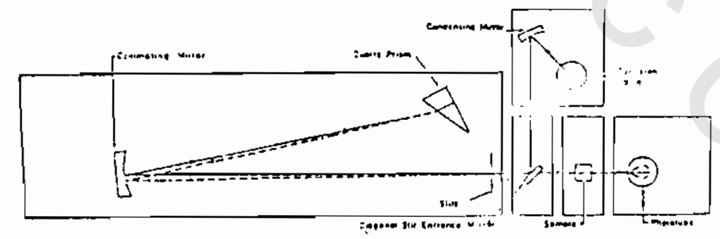
استعملت ظاهرة انكسار الضوء المتدرج Diffraction grating monochromator فى عمل هذا الجهاز حيث يقوم المنشور الزجاجى أو نوع من الحصائر بفصل الضوء الى اطوال موجات مختلفة ويحتوى الجهاز على امبليفير وكشاف الكترونى والجلفانومتر ويمكن القياس على اطوال موجات من ٣٧٥ - ٦٥٠ ميكرون ويمكن اضافة مرشح اخر وتغير الخلية الضوئية لزيادة المدى حتى ٩٥٠ ميكرون وعرض الحزمة الضوئية ٢٠ ميكرون . الجهاز يستخدم فى قياس الالوان فى المجال المرئى والغير مرئى .



شكل (٣) رسم توضيحى لجهاز إسبكتروفوتومتر بوش - لومب سبكترونيك ٢٠

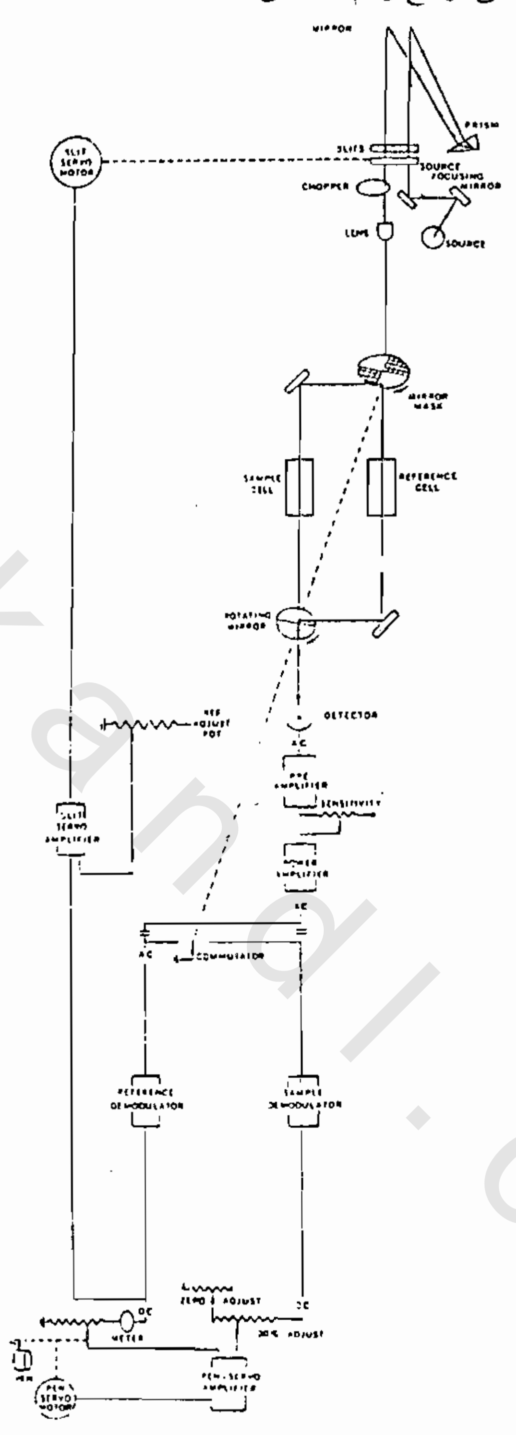
(٤) جهاز بكمان دى يو سبكتروفوتومتر **Beckman Du** :

يستخدم هذا الجهاز فى التقدير اللونى العادى وبالأشعة فوق البنفسجية اى المرئى والغير مرئى وهو عملى جدا وينتشر فى العديد من المعامل وحاليا توجد اجهزة يابانية والمانية والجليزية على مستوى عالى جدا . مصدر الضوء فى هذا الجهاز لمبة من التنجستين او الايدروجين تركز الضوء الصادر منها على مرآة مجهر ثم يمر منها على مرآة الدخول التى تعكس الضوء الى فتحة دخول الضوء ثم الى مرآة مجمعة اخرى ينعكس منها الضوء الى منشور كوارتز حيث يحدث له انكسار . وتقوم خلفية المنشور اللامعة بعكس الضوء المتكسر خلال المنشور . يمكن اختيار طول الموجة المناسب باستخدام وحدة اختيار Selector حيث يقوم بضبط وضع المنشور ثم يمر الضوء الى العينة ومنها الى الخلية الضوئية مسببا تيار كهربى يتم تكبيره بواسطة اميليفير وتسجيله على مقياس لذلك .



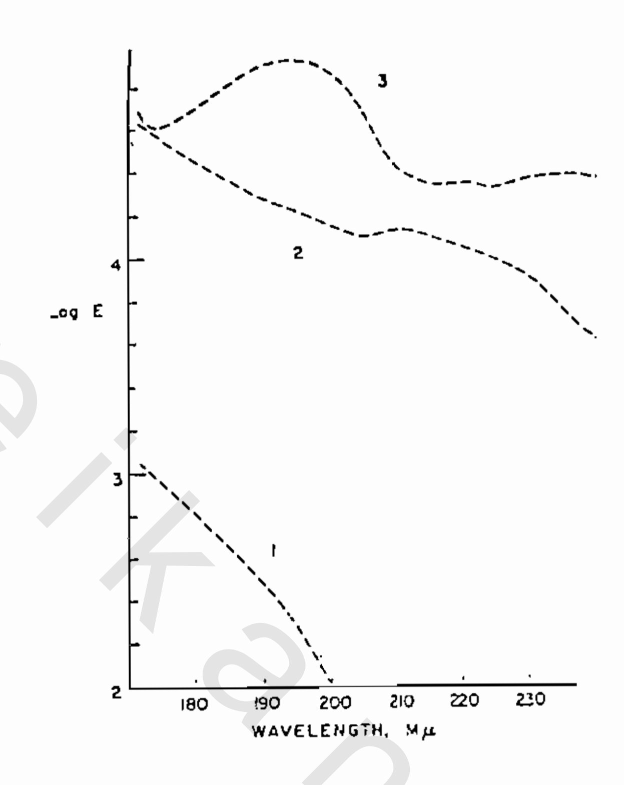
شكل (٤) رسم تخطيطى لجهاز سبكتروفوتوميتر بكمان دى يو

الشكل التالى يوضح رسم تخطيطى لجهاز بكمان   الاسبكتروفوتومتر .

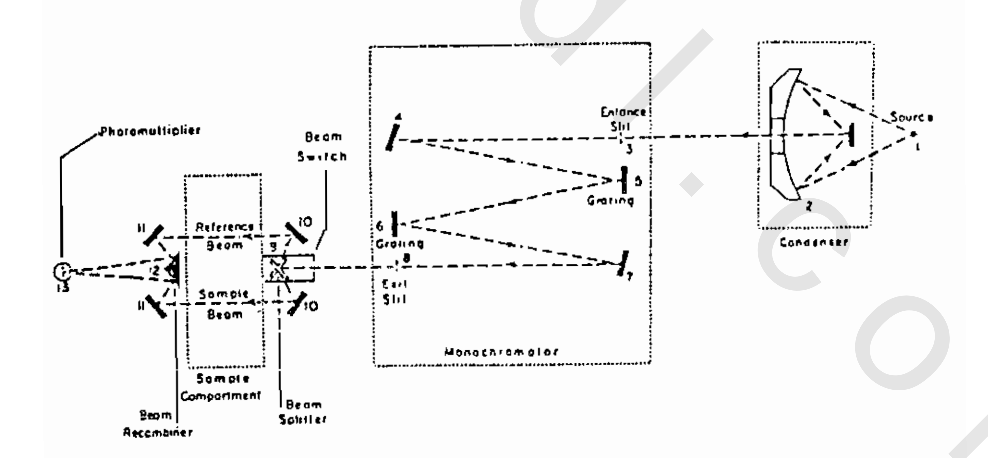


شــكل (٥) النظــام الضـــوئى لجهـــاز بكمـــان طـــراز DK

والرسم التالى يوضح طبقة الاشعة فوق البنفسجية لمبيدات اللندين والالدرين والديلدرين .



شكل (٦) : طيف يعيد الأشعة فوق البنفسجية لمبيدات اللندين١ والألدرين٢ والدرن٣



شكل (٧) : رسم تخطيطى لجهاز بوش لومب طراز ٥٠٥ يوضح طريقة التشغيل

* القياس اللونى بالاشعة تحت الحمراء الاسبكتروفوتومترية Infrared spectrophotometric :

* تستخدم الاشعة تحت الحمراء للكشف والتقدير الوصفى والكمى للمبيدات وغيرها من الكيميائيات بطريقة مشابهة لما يحدث فى الطرق اللونية فى الضوء المرئى او فى نطاق الاشعة فوق البنفسجية . نود التأكيد على ان معظم استخدامات اجهزة القياس بالاشعة تحت الحمراء تتركز فى تحليل مستحضرات المبيدات formulations ولا تستخدم الا نادرا فى الكشف عن مخلفات المبيدات Residues بسبب قلة الحساسية وعدم توفر الاجهزة ذات المواصفات الخاصة لهذا الهدف . يمكن استخدام الاشعة تحت الحمراء لتحديد نوع المبيد وكميته بطريقة طبيعية دون اللجوء للتحليل الكيميائى .

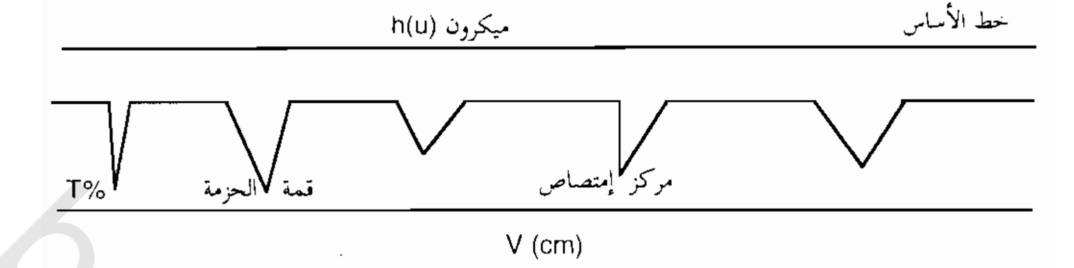
* يغطى حزام الاشعة تحت الحمراء الاطوال الموجية من ٠,٧٥ - ٣٠٠ ميكرون . وما يعنينا منها لقياس المبيدات الموجات من ٢ وحتى ١٥ ميكرون علما بان منطقة ٣٠ ميكرون تؤخذ فى الاعتبار . يعبر عن مواضع حزم الإمتصاص بطول الموجة بالميكرون او بالعدد الموجى بمقلوب الوحدة سنتيمتر cm-1 علما بان العدد الموجى هو مقلوب طول الموجة . يرجع ظهور حزم الإمتصاص فى منطقة الاشعة تحت الحمراء بسبب حدوث اهتزازات فى الجزيئات وهذا يماثل ما يحدث لكرات صغيرة مرتبطة بسوستة (الكرات تمثل الأنوية والسوستة تمثل الأنوية) ومن ثم يحدث او يتكون عدد هائل من الاهتزازات تختلف فى الزاوية وكتلة النواة وقدرة الروابط وغيرها من الصفات المميزة وبذلك يمكن تمييز هذه الاهتزازات الأساسية وغير الاساسية .

* تظهر المركبات العضوية من ٥ - ٣٠ حزمة امتصاص وليكون موضع الحزمة من خصائص الجزئ حيث يمكن تمييزه عن غيرها من الجزيئات والتعرف على تركيبه او نواتج تحوله من الموضع . أما تركيز أو كمية المركب يمكن معرفتها بواسطة تحديد كثافة الحزمة حيث تزيد الكثافة كلما زاد التركيز اى ينطبق عليها قانون (بيير - لامبرت) كما فى الطرق الإسبكتروفوتومترية التى تعتمد على الاشعة فوق البنفسجية أو الضوء المرئى .

* يمكن تتبع القراءات المسجلة على وحدة القياس المسماه « سبكتروجراف » بقراءة النسبة المئوية لنفاذية الاشعة تحت الحمراء عند اطوال موجات مختلفة بعد مرورها على العينة . وجهاز الكشف حساس للحرارة . ان طاقة بعض الاطوال الموجية تمتص فى شكل حزم امتصاص بسبب تداخلها مع جزيئات المركب بينما لا تمتص بقية اطوال موجات الاشعة تحت الحمراء . تتم قراءة هذه النتائج المسجلة على الاسبكتروجراف وقراءتها بتمييز مواضع حزم الإمتصاص الاساسية وربطها بالمجموعات الفعالة للمركب وتهمل باقى حزم الامتصاص الثانوية الناشئة عن حدوث تداخلات معقدة للاشعة مع الجزيئات .

* يتم التقدير الكمى للمركب محل التقدير من خلال شدة امتصاص الاشعة تحت الحمراء لحزمة معينة مميزة وحادة للمركب حيث تقدر النفاذية عند قمة الحزمة وتكرر نفس الخطوات والقياسات لتركيزات مختلفة ثم يرسم المنحنى القياسى من العلاقة بين لوغاريتم النفاذية والتركيز على ورق رسم بيانى عادى . والرسم التالى يوضح خط البداية حيث لا يحدث عنده امتصاص

للضوء ثم تظهر حزم الامتصاص تبعا لنوع وتركيب ومقدرة المركب على الإمتصاص ، وكما قلنا تمثل قمة الحزمة التركيز والمادة .



* للاجابة على التساؤل الخاص بكيفية عمل جهاز الاسبكتروفوتومتر الذى يعمل بالاشعة تحت الحمراء نقول ان الجهاز يتركب من مصدر للطاقة او الاشعة تحت الحمراء وغالبا ما يكون عبارة عن سلك ساخن من النيكل كروم او البلاتين ينبعث من وهج ثم تستقبل الاشعة تحت الحمراء على زوج من المرايا بحيث يمر شعاع الى العينة محل القياس وشعاع اخر الى المادة القياسية Reference . يحتوى الجهاز على نظام دوار من المرايا يضمن السماح للشعاعين الخارجين من العينة محل القياس والاخرى القياسية بالمرور المتعاقب فى نفس المساحة وتمر الاشعة المتعاقبة على مرشح للأشعة تحت الحمراء بما يسمح بمرور منطقة محددة من مجال الاشعة تحت الحمراء ثم تستقبل الاشعة المتعاقبة على منشور من كلوريد الصوديوم او حاجز لفصل اطوال الموجات المختلفة تبعا لطاقاتها المتميزة . بعد ذلك يتركز الشعاعان المتعاقبان للعينة والمادة القياسية على جهاز حساس للحرارة يمكن من خلاله مقارنة طاقة كلا الشعاعين المتعاقبين ففى حالة عدم اختلاف الشعاعين المتقابلين عن بعضهم يقوم الجهاز بتسجيل ١٠٠ ٪ نفاذية . اما اذا حدث اختلاف بينهما نتيجة امتصاص العينة للطاقة عند طول موجة معينة يتم تسجيل نسبةالاختلاف فى الطاقة بين الشعاعين فى صورة حزم امتصاص للطاقة على الاسبكتروجراف . وكما سبق القول تقاس حزم الامتصاص بالميكرون وهى تمثل طول الموجة أو يحدد العدد الموجى بالسنتيمتر وتدل هذه المواضع على وجود نوع معين من المجاميع الفعالة فى تركيب المركب الجزيئى كما فى الامثلة الآتية :

المجموعة الفعالة	العدد الموجى سم – ١
الكان	١٤٥٠ – ٢٩٥٠
الكين	١٦٠٠ – ٣٠٠٠
اروماتيك	١٦٠٠ – ٣٠٥٠
كحول	٣١٠٠ – ٣٤٠٠
احماض	٢٩٠٠ – ٣٣٠٠
استر	١٧٠٠ – ١٧٥٠
الدهيد	٢٨٠٠ – ٣٠٠٠

المجموعة الفعالة	العدد الموجى سم – ١
كيتون	١٦٥٠ – ١٧٥٠
أمين	٣٣٠٠ – ٣٥٠٠
فوسفات	١٢٥٥
فو – ١ – الكبل	١١٦٠
اريل كلوريد	٦٠٠
فو – ١ – ميثيل	١٢٥٠

* بالنسبة للخلايا التى توضع بها العينة القياسية أو المرجع توجد منها انواع عديدة بعضها يصلح للعينات الغازية واخرى للسائلة أو الصلبة والنوعين الاخيرين هما الاكثر شيوعا . وقد تكون الخلية ثابتة أو حرة بحيث يمكن وضعها وازالتها والأخيرة تصلح للعينات الكبيرة والسوائل الغير المتطايرة أما الخلايا الثانية تستخدم فى المواد سهلة التطاير وهى مكلفة وذات حجوم مختلفة تناسب العينات المختلفة من المليلتر وحتى الميكروليتر . وتصنع الخلايا من مواد منفذة للاشعة تحت الحمراء مثل خلايا كلوريد الصوديوم الذى ينفذ اطوال الموجات من ٢ - ١٥ ميكرون او بروميد البوتاسيوم التى تلائم الموجات من ٢ - ٢٥ ميكرون وبروميد السيزيوم لتلائم ٢ - ٥٥ ميكرون .

تحضر العينة السائلة مذابة فى ثانى كبريتور الكربون او رابع كلوريد الكربون لضمان عدم تداخل حزم امتصاص المذيب النقى مع حزم الامتصاص للعينة . اما فى حالة العينات الصلبة يخلط مسحوقها مع مسحوق بروميد البوتاسيوم ويضغط المخلوط تحت ضغط عالى يصل الى مئات مثل الضغط الجوى لفترة عدة ثوانى ثم تفصل قرص بروميد البوتاسيوم المحتوى على العينة ويوضع فى خلية من بروميد البوتاسيوم .

* من اهم المشاكل التى تعترض انتشار استخدام الاشعة تحت الحمراء فى الكشف عن متبقيات المبيدات ضرورة اجراء عمليات تنظيف للعينات عالية الجودة بما يمكن من التغلب على تداخل حزم الامتصاص للشوائب مع حزم الامتصاص الخاصة بالمبيد او نواتج التحول الكيميائى . لتحقيق التنظيف الجيد يمكن الإستعانة بطرق الفصل بالورق الكروماتوجرافى او كروماتوجرافى الالواح الزجاجية المغطاة وبعد الفصل يستخلص المركب بالمذيب المناسب ويحقن فى جهاز الكروماتوجرافى الغازى ويجمع من العمود الكروماتوجرافى ويجهز للتحليل بالاشعة تحت الحمراء حتى يمكن مقارنة النتائج بالعينة القياسية عالية النقاوة . اذا حدثت تحولات وتغيرات فى المركب الاصلى محل التقدير يمكن تحديد ما حدث بناء على خبرة ودراية القائم بالتحليل .

* لن اطيل على القارئ بتفصيلات كثيرة منعا للملل لأننى قصدت من هذا الكتاب ان اجعل كل مهتم بتحليلات المبيدات والكشف عن المخلفات ان يتذوق هذا الفن .. وكما سبق ان اشرت الى أننا جميعا ننهل من خبرات من سبقونا او من يعملون معنا دون حرج او عيب . من اخطر الامور على القائم بالتحليل سواء للمبيدات أو الملوثات البيئية الغرور وادعاء المعرفة وعليه ان يلقى نظرة للتطور الهائل الذى حدث فى اجهزة وطرق القياس حتى يثق بما حاولنا ان ننبه اليه .

الفصـــل الثـانـى عشـــر

– الفصل الكروماتوجرافى بالالواح ذات الطبقة الرقيقة .

* مقدمــــــة
* اساسيات الطريقة .
* الاجهزة .
* طريقة وخطوات التقدير .

١ – تغطية الالواح الزجاجية .

٢ – وضع العينات على الالواح .

٣ – استعمال الالواح .

٤ – تجهيز العينات .

* تنظيف العينات .
* انواع الوسط الصلب والسائل .

– طرق التطبيق والكشف عن مجموعات المبيدات المختلفة .

١ – الكشف عن المبيدات الكلورينية .

٢ – الكشف عن المبيدات الفوسفورية العضوية باستخدام نترات الفضة .

٣ – الكشف عن المركبات المحتوية على الكبريت او استرات حمض الفوسفوريك .

٤ – الكشف عن الروتينون .

٥ – الكشف عن البيرثرينات والمنشط بيرونيل بيوتوكسيد .

٦ – طرق جديدة مع الالواح الزجاجية المغطاة .

(أ) طريقة الالواح .

(ب) طريقة الالواح والانزيم الغير مباشرة .

(جـ) الالواح المغطاة ذات البعدين .

(د) الالواح ذات الوسط المعكوس .

(هـ) تسجيل الكروماتوجرام .

(و) التحديد الكمى للكروماتوجرام .

٧ – الاختبارات التأكيدية .

٨ – العوامل التى تؤثر على كفاءة الفصل بالـ TLC .

* قائمة المراجع



الفصل الكروماتوجرافي بالالواح ذات الطبقة الرقيقة

Thin layer chromatography (TLC)

* مقدمـــــة :

يطلق على هذه الطريقة « التقدير نصف أو شبه الكمى » Semiquantitative determination وهى تستخدم اساسا كطريقة تأكيدية لما اسفر عنه التقدير الكروماتوجرافى الغازى كما يمكن الاعتماد عليها لتقدير المبيدات الكلورينية وغيرها فى حالة عدم توفر او تعطل جهاز الكروماتوجرافى الغازى . وقد ثبت كفاءة هذه الطريقة وسهولتها وسرعة اجرائها وتماثل نتائج التحليلات مع تكرار الكشف عن نفس المبيد وكذلك تعطى نتائج توصف بانها شبه كمية مقبولة لحد ما . ولكى نثق ونتفهم امكانيات هذه الطريقة نقررانها يمكن الاعتماد عليها للكشف عن كميات فى حدود ٢٥ نانوجرام من المبيدات الكلورينية الدرين – ديلدرين – اندرين – هبتاكلور – هبتاكلورابيبوكسيد – تى دى اى – دد اى – ددت .

* بساطة الطريقة تتمثل فى انها تحتاج فقط الى طبقة رقيقة من مادة ادمصاص ودعامة صلبة مثل السليكا جيل ولوح زجاج على التوالى . فى بعض المركبات الكيميائية تكون حدود التقدير فى حدود النانوجرام واحيانا البيكوجرام . والتقدير يكون فى غاية الدقة اذا احسن اختبار المواد والمذيبات ويمكن الاعتماد على النتائج المتحصل عليها . يمكن استخدام الطريقة لتحليل العديد من المركبات باستخدام مجموعة مختلفة من المذيبات او مخاليطها « كوسط متحرك mobile phase ومواد ادمصاص مختلفة كوسط ثابت stationary phase والتحكم فى سمك طبقة الوسط الثابت ونظام الكشف وظروف الفصل بما يتيح التقدير النوعى والكمى وكذلك تجهيز العينات اى التنقية وفصل المادة الفعالة من الشوائب . هذه الطريقة سريعة جدا لدرجة انه يمكن الحصول على النتائج خلال دقائق معدودة . وبسبب التكلفة البسيطة تستخدم هذه الطريقة فى العديد من المعامل .

* استخدمت طريقة كروماتوجرافى الالواح TLC فى العديد من المجالات وبنجاح منقطع النظير كما فى الكيمياء البيولوجية والعضوية والغير عضوية وغيرها . كذلك تستخدم فى تنقية الكيميائيات قبل خطوات التعريف والتقدير الكمى . وسنحاول فى هذا المقام ان نركز على امكانيات هذه الطريقة فى الكشف عن المبيدات . وتضم قائمة المراجع ارقام ٢ ، ٣ ، ٤ ، ٥ ، ٦ ، ٧ ، ٨ ، ٩ وهى تختص باستخدام الـ TLC فى الكشف عن المبيدات وهى مقسمة الى اقسام حسب مجاميع المبيدات الكاربامات والفوسفورية والكلورينية والفطرية وغيرها . وقد اشار Mendoza فى المرجعين ١٠ ، ١١ لتقدير المبيدات من خلال دمج طريقة انزيم الاسيتايل كولين استريز مع الكروماتوجرافى TLC .

* اساسيات الطريقة Basic principles :

اساس الطريقة يعتمد على ادمصاص المركب محل التقدير على طبقة رقيقة من مادة الادمصاص او الوسط الثابت وذوبانه فى نظام من المذيبات او ما يعرف بالوسط المتحرك . يسمح الوسط المتحرك بحركة المركب من نقطة البداية حتى نقطة النهاية السابق تحديدها فى التجارب الاولية . نقطة البداية هى موضع تنقيط المركب وخط النهاية هو نهاية حركة المذيب (شكل - ١) . النسبة بين المسافة التى تحركها المركب الى مسافة حركة المذيب (النهاية) تعرف بالمعيار RF (معدل الانسياب Rate of flow) . تتأثر حركة المبيد والمذيب بالضغط البخارى والحرارة فى كابينة الكروماتوجرافى ومن ثم تكون قيمة RF تحت الظروف المتحكم فيها من الصفات الطبيعية للمركب .

LABEL	خط المذيب
FRONT	خط النهاية
ORIGIN	خط البداية

شكل (١) : لوح TLC مع خط البداية والنهاية .

يعبر عن الـ RF بقيمة نسبية Relative RF value (Rst) اى النسبة بين المسافة التى تحركها المركب الى المركب القياسى وهذه تعطى الصلاحية للمقارنة بين قيم عند اوقات مختلفة وتحت ظروف كروماتوجرافية مختلفة عندما تكون مادة الادمصاص والمركب القياسى دون تغيير عند كل تقدير . بوجه عام يفترض ان حركة المركب ترتبط مباشرة بالمركب القياسى تحت الظروف المحددة وهذا الافتراض يجب ان يؤخذ بحذر بسبب احتمال اختلاف ذوبان وادمصاص المركب محل الاختبار ونظيره القياسى تحت نفس الظروف .

* الاجهزة Instrumentation :

تم حصر الاجهزة المتاحة لفصل وتعريف المركبات باسلوب عام بواسطة البحاث Hurdtubise وآخرون (١٩٧٣) وكذلك Lott وآخرون (١٩٧٩) من حيث الفصل والكشف والتقدير الكمى للمركبات ، كما نوقشت اساسيات الاجهزة بواسطة Stahl (١٩٦٥) .. والاجهزة المطلوبة تشتمل على الآتى :

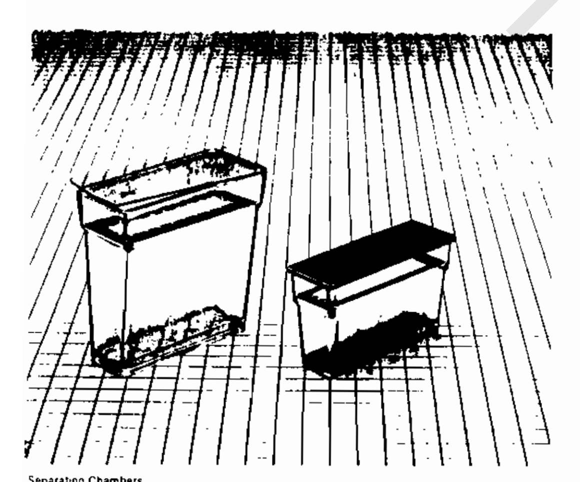
١ – ناشر الطبقة الرقيقة من مادة الادمصاص واللوحة وهى تقوم بنشر وتوزيع متجانس بعجينة مادة الادمصاص (الوسط الثابت) وهى مزودة بميكروميتر للتحكم فى سمك الطبقة واللوحة تثبت الواح الزجاج قبل وضع العجينة عليها .

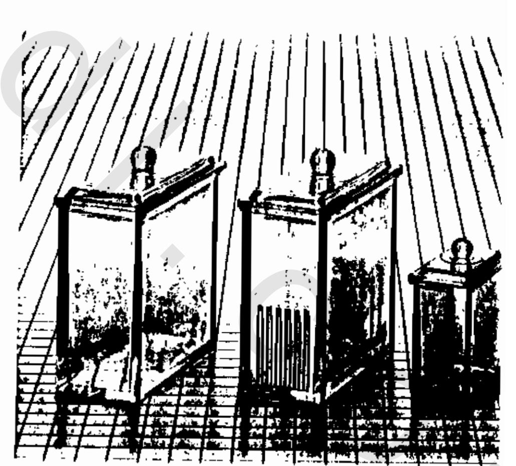
٢ – الوسط الثابت Stationary phase يعمل على شكل طبقة رقيقة من السليكا جيل او السليلوز او الالومينا ... الخ والتى يجب ان تكون لها مقدرة على ادمصاص المركبات الكيميائية عندما يتحرك المذيب خلال الطبقة .

٣ – المواد الصلبة المعضدة Solid supports الواح زجاجية او الالومنيوم او رقائق من البلاستيك بشرط ان تكون مقاومة للمذيبات العضوية تستخدم كمواد معضدة .

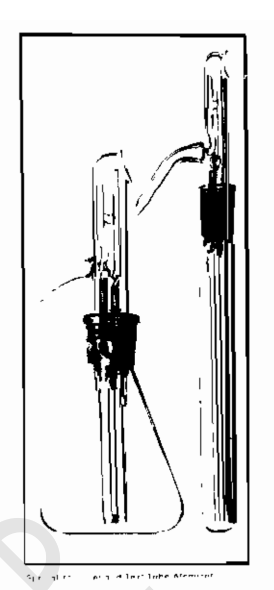
٤ – حجرة الكروماتوجرافى (الشكل ٢ أ ، ٢ جـ) وهى تصنع من زجاج شفاف وتستخدم للإحتفاظ بالوسط المتحرك (المذيب) .

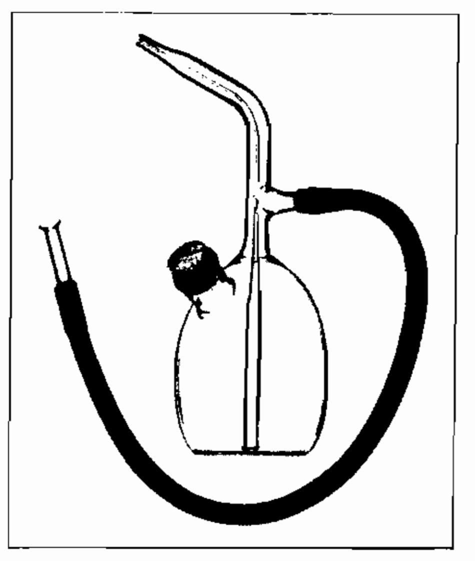
٥ – محقن العينة والمسطرة Sample applicator and template تشمل حقنة دقيقة وانابيب شعرية معايرة وهى تستخدم لتنقيط العينة على اللوح المجهز بمادة الادمصاص عند خط البداية والمسطرة من البلاستيك وتعاير لتحديد نقطة البداية والنهاية كما تستخدم فى قياس مساحة البقعة والمسافة التى تحركها المركب .





شكل (٢) : نوعان من حجرات الكروماتوجرافى ذات الألواح





شكل (٣) : رشاشات زجاجية لرش المحاليل الملونة على الواح الكروماتوجرافى

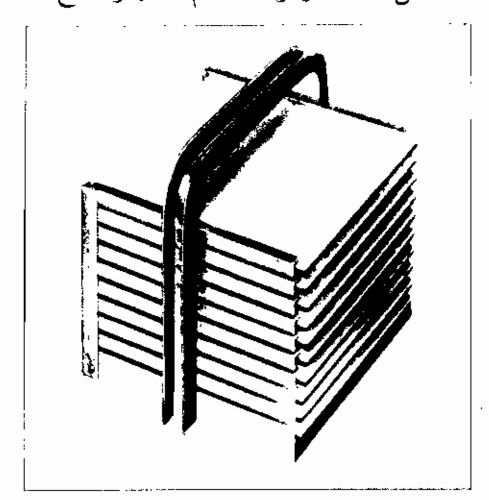
٦ – وحدة لتجهيز كروماتوجرافى الالواح ذات الطبقة الرقيقة .

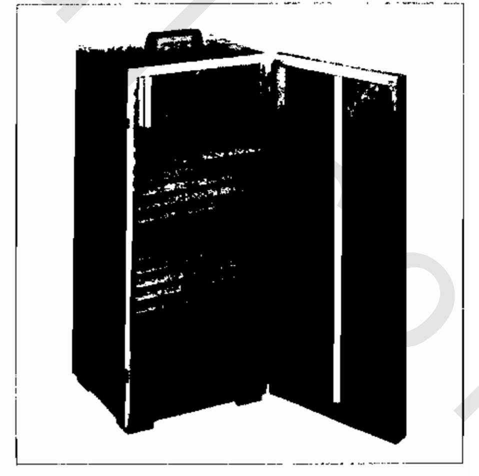
٧ – رشاشة لرش المواد المتفاعلة لتنشيط او الكشف عن المركبات على اللوح الزجاجى (شكل – ٣) .

٨ – ماسك الالواح يمكن استخدام اى مادة بحيث لا تؤدى الى تلوث طبقة الادمصاص ويفضل الزجاج واى مادة غير قابلة للتآكل .

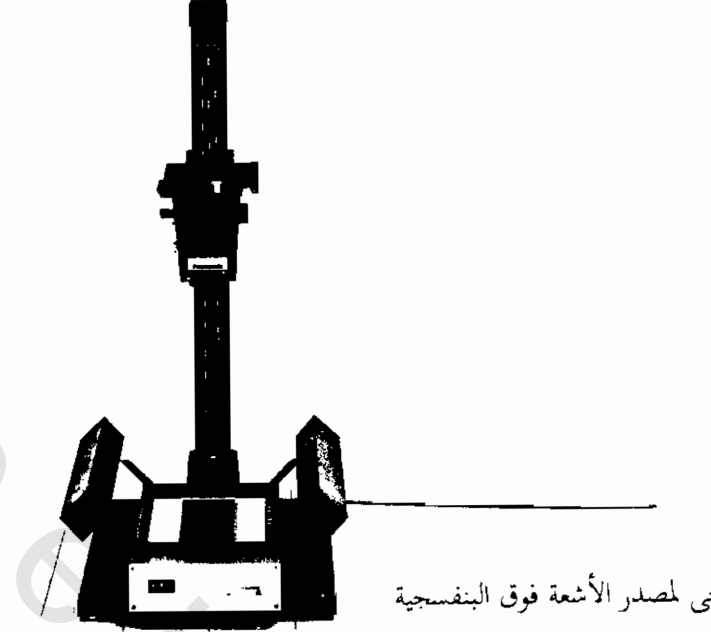
٩ – حامل الالواح وصندوق التخزين المحكم (شكل – ٤) . ويفضل ان يصنع الحامل من الصلب الغير قابل للصدأ كما يجب ان يبطن الصندوق بالصلب الغير قابل للصدأ ايضا لمنع التلوث .

١٠ – صندوق ومصدر الاشعة فوق البنفسجية UV (شكل – ٥) وهو يستخدم لاظهار البقع .





شكل (٤) : وعاء التخزين (على اليسار) والصندوق المحكم الغلق (على اليمين)



شكل (٥) : رسم توضيحى لمصدر الأشعة فوق البنفسجية

الجواهر الكشافة المطلوبة تتوقف على المركبات المطلوب تحليلها .. ومع هذا يمكن الاشارة الى اهم المواد المستخدمة فى :

١ - الوسط الثابت : سليكا جيل - اكسيد الالومنيوم - الفلوروسيل - السيليلوز ..

٢ - الوسط المتحرك : المذيبات العضوية - الماء - حمض الخليك .

٣ - المواد الملونة : نترات الفضة - اندوفينيل اسيتات - استرات النافثيل - الفاست بلو - اندوفثالات .

*** طريقة وخطوات التقدير Techniques :**

لن اخوض بالتفصيل فى هذا المجال حيث ان التدريب على هذه الطريقة ميسر وسهل وليس فيه اى صعوبة وهذه مسئولية الشركات المصنعة والموردة كما ان النشرات المصاحبة للاجهزة توضح كل شيئ بالتفصيل ولا غضاضة فى ان يقوم الباحث بتعليم نفسه وسوف يخطئ ويأخذ وقت حتى تصل حساسية التداول الى الحد المطلوب وكلما اجرى تجارب اكثر ازدادت خبرته .. وتشتمل خطوات تقدير المواد الكيميائية باسلوب TLC على المراحل والخطوات الآتية (الصور تعبر عن نفسها) ..

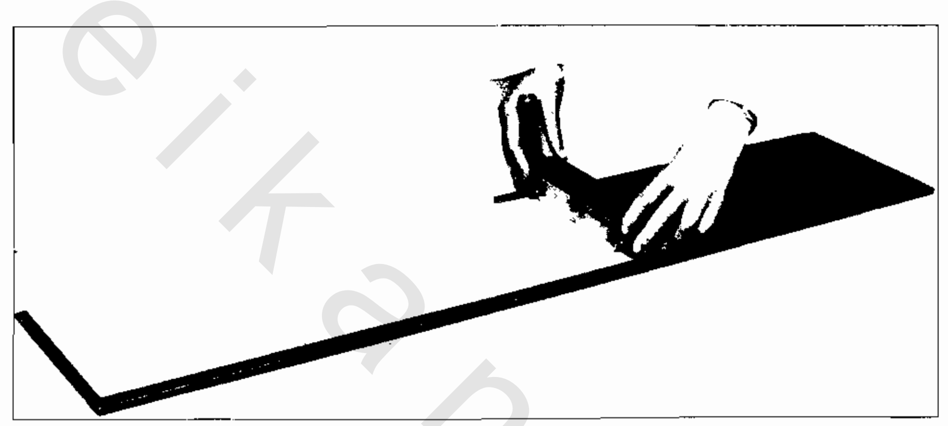
*** ١ - تغطية الالواح الزجاجية Coating :**

يتطلب هذا العمل تدريب وخبرة فى خلط ونشر العجينة ويجب قبل عمل العجينة التنظيف الجيد للالواح وتجفيفها جيدا . وتوضع الالواح على الحامل بشرط ان تكون ذات سمك واحد ويضبط الميكروميتر للحصول على سمك واحد ومتجانس من مادة الادمصاص . تجهز العجينة بخلط مادة الادمصاص مع الماء وبنسبة معينة محددة . تسكب العجينة وتفتح فتحة الدخول وتنشر فوق

الالواح ثم تزال وتترك حتى تجف . اذا لم يكن الناشر متوفرا يمكن نشر العجينة باستخدام شريحة زجاجية رقيقة وهناك جهاز بسيط كما فى الشكل (٧) . بعد ان تجف الالواح توضع فى فرن على درجة ١١٠ م لمدة ٠,٥ ساعة على الاقل ويمكن ان تخزن الالواح المعاملة فى صندوق محكم يحتوى على محببات من السليكا جيل (الشكل - ٤) .

*** ٢ - وضع العينات على الالواح Application of samples :**

قبل تنقيط العينات توضح وتحدد ابعاد اللوح ومادة الادمصاص ويزال الجيل الزائد عند الحواف بابعاد ٢ - ٤ ملليمتر ثم يحدد خط البداية والنهاية (شكل - ١) . ومن المفضل



Coating of TLC-plates with TLC-Spreading Device and TLC-Spreading Template

شكل (٦) : رسم يوضح كيفية تغطية الألواح بالمادة الإدمصاجية

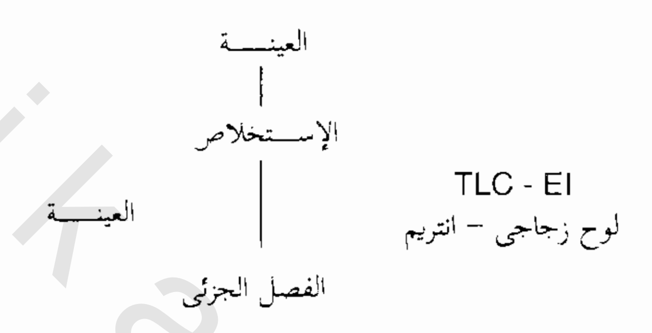
عمل خط عبر النهاية حتى يمكن سريان الوسط المتحرك ووصوله للنهاية . توضع العينة على خط البداية بإستخدام المحقن الدقيقة أو الانبوبة الشعرية الدقيقة وتستخدم المسطرة الشفافة لتوضيح وضبط المسافة بين النقط . الحقنة يجب ان يكون لها شفة بزاوية ١٨٠ م . النقطة تكون صغيرة ما امكن وتترك لتجف قبل وضع العينة الثانية منعا للانتشار والتداخل .

*** ٣ - استعمال الالواح Development of the plates :**

يجب تحقيق الاتزان فى حجرة الكروماتوجرافى قبل الاستخدام . توضع الالواح فى التنك وتغطى فى الحال (شكل - ٢) ، يمكن العمل على عدة الواح فى نفس الوقت بوضعها فى الحامل المصنوع من الصلب الغير قابل للصدأ . يجب ان يلامس المذيب الجيل تحت نقطة البداية - يزال اللوح بمجرد وصول المذيب للخط قبل النهاية . يسمح للمذيب بالبخر قبل استخدام المواد الملونة او المنشطة او محلول الانزيم .

* ٤ – تجهيز العينات **Preparation of samples** :

يجب ان تستخلص المبيدات من العينات النباتية والحيوانية أو الأرض أو الماء أو الهواء فى المذيبات العضوية . العديد من مستخلصات العينات تتطلب عمليات تنظيف قبل اجراء الفصل بالكروماتوجرافى ذو الالواح المغطاة TLC . يوضح الشكل (٧) رسم تخطيطى لتجهيز العينات قبل الفصل مع طريقة الالواح والتثبيط الانزيمى EI .. وهذه الخريطة تصلح لجميع طرق الـ TLC . يجب تركيز العينات وتقليل الحجم لاقل ضرر ممكن عن طريق التبخير بالتفريغ Vaccum او تيار هادئ من الهواء أو النتروجين . لسنا فى حاجة لتأكيد ضرورة ان تكون الاجهزة خاصة الزجاجية فى منتهى النظافة كما تكون الغازات نقية جدا قبل الاستخدام لتفادى تلوث العينات .

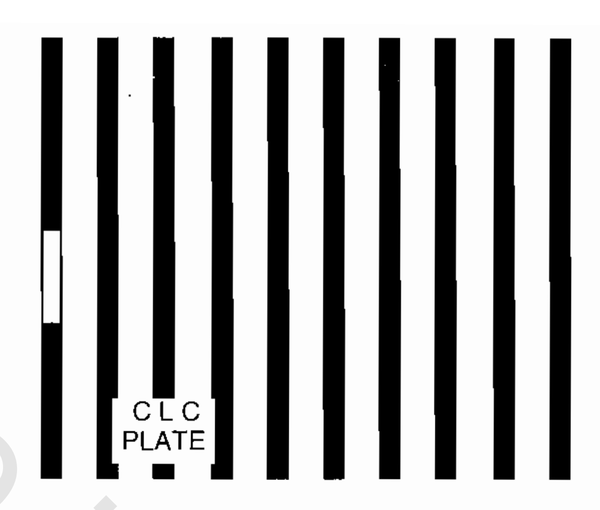


شكل (٧) : رسم تخطيطى يوضح تجهيز العينات قبل الفصل بالـ TLC مع الانزيم .

تنظيف العينات Clean-up of samples :

يجب تنظيف بعض العينات قبل اجراء التقدير بالـ TLC من خلال اعمدة الكروماتوجرافى او TLC او ترسيب الزيوت او الدهون بالتبريد او الفصل الجزئى او التقطير المتكرر او ترسيب البروتين بالطرد المركزى او الترشيح او الادمصاص على الفحم المنشط وهكذا . فى الفصل بالاعمدة الكروماتوجرافية توجد مواد ادمصاصية وذات القدرة التبادلية الايونية .

يمكن استخدام الالواح الزجاجية المغطاة بطبقة سميكة (اكثر من ٠,٥ ملليمتر) فى تنقية العينات وكذلك يمكن استخدام طبقات وقنوات الكروماتوجرافى (شكل – ٩) حيث توجد تجاويف فى اللوح بما يحقق نظام العمود المفتوح لذلك توضع طبقة سميكة جدا من الجيل فى التجاويف . يتوقف استخدام هذه الطريقة على نوع العينة محل التحليل كما يجب التاكد من نظافة المذيبات ومواد الادمصاص منعا للتلوث .



شكل (٨) : لوح الكروماتوجرافى ذو القنوات

والجداول التالية توضح قيم RF مضروبا فى ١٠٠ للمبيدات التى اختبرت مع نظم مختلفة من المذيبات الخاصة بالوسط المتحرك واذا اجريت عملية الفصل على الالواح تحت نفس الظروف لحصلنا على نفنس القيم تقريبا .

* **انواع الوسط الصلب والسائل Stationary and mobile phases :**

هناك انواع عديدة من الجيل تصلح للكروماتوجرافى ذو الالواح المغطاة خاصة السليكا جيل كما يمكن استخدام اكسيد الالومنيوم او السليلوز او الفلوروسيل كوسط ثابت . استخدم الفلوروسيل مع ٩٠ مبيد . جدول (١) يعطى قيم RF للمبيدات مع الفلوروسيل وخمسة نظم من المذيبات اما جدولى (٢ ، ٣) توضح RF للكاربامات على الكيسلجيل مع مذيبات مختلفة . وجدولى (٤ ، ٥) توضح RF للمبيدات الكلورينية والفوسفورية مع نظم ثابتة ومتحركة مختلفة .

جدول (١) : قيم RF (× ١٠٠) للمبيدات والمركبات المرتبطة بها على الالواح المغطاة بالفلوروسيل مع نظم مختلفة من المذيبات العضوية .

Sample No.	Compound	Hexane	Diethyl ether : hexane (6 : 94, v/v)	Diethyl ether : hexane (15 : 85, v/v)	Toluene	Acetone : toleuene (1 : 9, v/v)
1	Hexachlorobenzene	70	76	80	90	90
2	Aldrin	61	71	77	90	90
3	Chlordane	52, 45, 37, 28, 20	69, 48, 22	75, 64, 57	90	90
4	DDE	51	69	80	87	88
5	Isobenzan	48	71	78	90	90
6	1-Chloro-2, 2-bis (4-chlorophenyl) ethylene	48	69	78	88	89
7	Quintozene	43	68	82	87	89
8	DDT	40	58	67	87	88
9	a - BHC	35	61	68	85	86
10	y - BHC	26	51	61	86	87
11	TDE	24	46	63	83	86
12	Trifluralin	19	74	76	88	88
13	Pentachlorophenyl acetate	19	55	65	80	87
14	Benfluralin	12	63	74	83	90
15	Bromophos-ethyl	13	57	64	83	84
16	Dichlofenthion	7	57	65	78	89

Sample No.	Compound	Hexane	Diethyl ether : hexane (6 : 94, v/v)	Diethyl ether : hexane (15 : 85, v/v)	Toluene	Acetone : toleuene (1 : 9, v/v)
17	Dursban	3	55	65	77	89
18	Fenoprop butyl	3	50	60	74	87
19	4, 4' - Dichlorobenzophenone	2	47	58	63	87
20	Endrin	9	39	57	74	85
21	Dieldrin	7	39	53	75	85
22	Ethion	2	33	50	79	89
23	Dicofol	4	(50) 32	(60) 48	63	87
24	Fenoprop methyl	4	34	48	62	84
25	2, 4, 5-T n-butyl	2	31	50	57	86
26	Dinocap	0	30	50	61	88
27	2,4,5-T isobutyl	0	32	50	52	87
28	2,4,5-T isopropyi	0	32	50	53	87
29	Tetradifon	2	30	47	65	87
30	Bromoxynil octanoate	0	28	46	57	86
31	2,4,5-T n-propyl	0	27	45	49	87
32	Nitrofen	2	26	43	78	85
33	N,N-Dimethyl-p-phenylazoaniline	0	26	41	42	84
34	2,4,5-T ethyl	0	25	41	43	86
35	2,4-D sec-butyl	0	23	44	51	83
36	Parathion	4	23	38	51	85

Sample No.	Compound	Hexane	Diethyl ether : hexane (6 : 94, v/v)	Diethyl ether : hexane (15 : 85, v/v)	Toluene	Acetone : toleuene (1 : 9, v/v)
37	2,4-D isobutyl	0	21	39	43	86
38	Dicloran	2	21	25	45	73
39	2,4-D n-butyl	0	20	37	47	84
40	2,4-Disopropyl	0	19	38	46	84
41	2,4,5-T methyl	1	18	33	43	82
42	2,4-D ethyl	0	17	31	43	82
43	Phenothiazine	1	16	28	65	75
44	2,4-Dichlorophenol	4	18	27	37	59
45	δ-BHC	4	14	28	80	84
46	Diazinon	2	14	28	30	84
47	2,4-D methyl	0	13	21	32	79
48	2,4,5-T butoxyethyl	0	11	23	26	83
49	a-Naphthol	2	11	23	29	63
50	3,4-Diehloroaniline	4	7	13	42	84
51	Mercaptodimethyr	0	7	22	23	65
52	Dioxathion	3	8	17	32	86
53	Malathion	2	5	14	22	79
54	2,4-D butoxyethyl	0	4	13	14	84
55	Folpet	0	0	12	27	80
56	p-Phenylazoaniline	0	4	10	24	68

Sample No.	Compound	Hexane	Diethyl ether : hexane (6 : 94, v/v)	Diethyl ether : hexane (15 : 85, v/v)	Toluene	Acetone : toleuene (1 : 9, v/v)
57	Trichlorophenol	2	3	4	13	86
58	Captan	0	0	6	13	70
59	Linuron	0	2	5	11	68
60	Dithianon	0	0	0	13	81
61	Imidan	0	0	3	10	73
62	Carbaryl	0	(11) 1	(24) 4	(30) 11	(64) 53
63	Ametryne	1	4	6	10	59
64	2,4-Dichlorophenoxyethanol	0	2	3	8	52
65	Propazine	0	0	5	6	60
66	Azinphos-ethyl	0	0	4	5	73
67	Azinphos-methyl	0	0	2	4	68
68	Atrazine	0	2	4	5	60
69	Thiram	0	2	5	8	45
70	Dazomet	0	0	1	8	45
71	Simazine	0	0	0	1	43
72	Cyolane	0	2	3	3	41
73	4-Nitrophenol	1	3	4	5	35
74	Crotoxyphos	0	0	0	0	41
75	Demeton-methyl	0	0	1	3	39
76	Diuron	0	0	0	0	41

Sample No.	Compound	Hexane	Diethyl ether : hexane (6 : 94, v/v)	Diethyl ether : hexane (15 : 85, v/v)	Toluene	Acetone : toleuene (1 : 9, v/v)
77	Bromacil	0	0	0	0	41
78	Monuron	0	0	0	0	35
79	Fluometuron	0	0	2	3	33
80	1,1-Bis-(4-hydroxyphenol)-2,2,2-trichloroethane	0	0	0	0	26
81	Methomyl	0	0	0	6	25
82	Fenuron	0	0	0	3	25
83	Haloxon	0	0	0	0	25
84	Coumaphos	0	0	5	6	14
85	Dimethoate	0	0	0	2	17
86	Thiabendazole	0	0	0	0	11
87	Warfarin	0	0	0	0	11
88	Trichlorfon	0	0	0	0	7
89	Pentachlorophenol	0	0	0	0	7
90	Amitrole	0	0	0	0	0

Source : From Hamilton and Simpson (16).

جدول (٢) : قيم RF (× ١٠٠) لاحدى عشر مبيد كاربامات مع نظم مذيبات عضوية مختلفة على الكيسلجيل G-HR .

Pesticide	1	2	3	3b	4	4b	5	6	7	8	9	9b	10	10b	11	12	13	14	15	16
Aldicarb (500)c	20	33	66	60	45	50	62	23	21	27	33	35	25	32	29	30	0	75	33	11
Banol (50)	33	38	77	72	65	57	89	40	35	39	46	47	39	40	40	32	3	79	45	33
Baygon (500)	27	40	76	63	50	53	77	28	30	32	35	33	38	35	27	25	1	76	35	11
Carbaryl (5)	24	38	75	63	43	57	77	28	29	28	35	27	25	27	32	24	1	75	35	25
Carbofuran (500)	26	39	71	61	49	43	80	29	20	.27	37	38	31	33	31	24	2	70	33	8
Carbofuran 3-OH (500)	6	13	23	22	432	35	28	7	7	7	33	20	15	19	7	5	0	55	39	0
Metacil (500)	27	37	75	67	54	55	70d	28	28	33	39	40	30	37	33	25	2	70	33	7
Mesurol (50	32	48	77	72	64	61	80	40	35	39	45	51	39	43	37	31	0	77	37	30
Mobam (5)	22	37	71	61	50	52	69d	26	25	28	35	37	27	33	32	21	3	76	33	23
Ortho 5353 (50)	37	53	80	77	68	65	89	44	39	41	51	53	40	47	40	33	5	78	43	33
Zectran (500)	35	48	79	77	66	61	86	50	37	40	46	47	40	47	39	33	5	77	43	27

a (1) 20% acetone in cyclohexane, (2) 20% acetone + 10% benzene in hexane, (3) 20% acetone in pentane, (4) 30% acetone in hexane, (5) 20% acetone + 10% benzene in pentane, (6) 20% acetone in hexane saturated with methanol, (7) 20% acetone with hexane, (8) 20% acetone in 1 part of hexane : 1 part of cyclohexane, (9) 30% acetone in cyclohexane, (10) 30% acetone in heptane, (11) 20% acetone in 1 part of pentane : 1 part of hexane, (12) 20% acetone in 1 part of hexane : 1 part of heptane, (13) cyclohexane, (14) ethanol, (15) 10% ethanol + 10% benzene + 20% acetone in heptane, (16) chloroform.

[b]Figures in parentheses indicate the pesticide amounts (in ng) spotted.

[d]Inhibitor detected in the dtandard solution.

Source : From Mendoza and Shields (36).

جدول (٣) : قيم RF لاثنى عشر مبيد كاربامات على انواع مختلفة من الجيل مع نظام مذيبات عضوية مختلفة .

Pesticide	Types of layer[a]									
	Silical gel G		Silica gel D-5		Silica get H		Silica AR TLC-7		Aluminum Oxide DS-5	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Aldicarb	43	14	38	8	43	17	--b	--	60	20
Banol	64	26	55	18	63	28	--	27	73	42
Baygon	57	22	42	14	49	22	47	23	63	20
Carbaryl	46	18	33	12	51	22	52	26	57	20
Carbofuran	45	18	33	12	51	21	53	26	57	20
Carbofuran 3-OH	20	5	12	2	10	8	20	13	3	0
Matacil	45	18	33	12	51	21	47	21	57	22
Mesurol	54	22	47	18	60	27	62	33	63	27
Mobam	45	14	33	9	51	20	47	26	52	16
Ortho 5353	65	25	61	19	68	32	60	35	73	30
Tranid	12	3	7	1	16	4	15	5	3	0
Zectran	64	24	61	19	71	30	60	39	73	30

[a]Solvent system : A. 20% acetone + 10% benzene in pentane; B, 20% acetone in hexane.
b-- = area of the spot, not definite.

Source : From Mendoza and Shields (36)

جدول (٤) : قيم RF (× ١٠٠) لبعض المبيدات الكلورينية العضوية والمركبات المتماثلة (حجم التنك ٢٨ × ٢٦ × ٢١ سم)

	System number[a] and Rf Value							
	1	1	2	2	3	4	5	6
Pesticide	A	S	A	S	S	S	S	A/S
Aldrin	95	70	82	67	64	69	58	98
Alpha-BHC	87	34	63	52	28	43	---	69
Gamma-BHC	78	21	55	46	18	37	---	58
p, p'-DDE	95	65	78	65	57	62	74	98
o, p'-DDT	89	50	73	59	46	58	50	90
p, p'-DDT	89	42	69	57	39	54	52	91
deHCl p,p'-TDE	93	53	75	49	53	62	67	98
Dichlorobenzophenone	31	14	55	59	27	48	---	---
Dieldrin	37	12	52	65	48	48	30	58
Endosulfan A	65	17	64	58	35	52	---	---
Endosulfan B	4	2	9	12	---	---	---	---
Endrin	51	13	61	49	26	52	---	---
Heptachlor	95	58	78	65	53	62	48	98
Heptachlor epoxide	49	17	57	39	---	---	---	---
Methoxychlor	---	---	---	---	10	36	28	---
p. p'-TDE	71	25	57	52	26	46	67	77

a(1) Hexane; (2) 94 + 5 + 1 petroleum ether (40 to 60°C) : liquid parafin : dioxane; (3) 4 + 1 petroleum ether (40 to 60°C) : liquid paraffin; (4) 7 + 2 + 1 cyclohexane : liquid paraffin : dioxane; (5) 9 + 9 + 2 cyclohexane : benzene : liquid paraffin; and (6) 92 + 8 cyclohexane : silicone oil. A = alumina, s = silica gel, A/S = 1 + 1 A : s.

Source : Cited in Abbott and Thomson (3).

جدول (٥) : قيم Rf (× ١٠٠) لبعض المبيدات الفوسفورية العضوية (٤٠ دقيقة فى كابينة ٢٨ × ٢٦٫٥ × ٢١ سم)

Pesticide	System number[a] and value								
	1 S	2 S	3 S	4 K/S	5 K/S	6 K/A	7 K/A	8 K/A	9 K/A
Azinphosmethyl	5	14	24	0	27	0	3	58	0
Carbophenothion	52	66	80	45	96	36	39	92	27
Chlorthion	16	27	52	11	52	10	12	81	9
Dichlorvos	4	10	17	3	23	0	0	3	0
Dimethoalte	2	4	7	0	2	0	0	12	0
Ethion	60	82	88	38	96	50	57	---	39
	40	60	74	16	90	15	17	90	13
Fenchlorphos	50	68	81	60	96	64	68	93	45
Malathion	12	29	45	0	57	0	2	81	0
Parthion	37	62	72	14	80	11	18	90	95
Phenkapton	54	71	84	43	95	43	38	90	30
Phorate	60	75	84	33	96	39	44	92	32
Phosphamidon	22	44	65	2	0	0	0	78	0
Thiometon	46	61	66	18	90	23	26	90	0

[a](1) 19 + 1 Hexane : acetone; (2) 9 + 1 hexane : acetone; (3) 6 + 1 hexane : acetone; (4) petroleum ether (40 to 60°C) ; d(5) 0 + 1 cyclohexane : acetone; (6) cyclohexane; (7) petroleum ether (40 to 60°C); (8) 9 + 1 cyclohexane : acetone; and (9) 20 + 1 hexane : liquid paraffin. S = silica gel, K/S = 1 + 1 Kielselguhr : silica gel, and K/A = 1 + 1 Kielselguhr : alumina.

Source : Cited in Abbott and Thomson (3).

* طرق التطبيق والكشف عن مجموعات المبيدات المختلفة :

* ١ - الكشف عن المبيدات الكلورينية :

يتطلب الكشف عن المبيدات الكلورينية تنظيف جيد للعينة قبل اجراء الفصل الكرماتوجرافى وتتوقف طريقة الفصل على نوع المبيدوالعينات المحتوية عليها ، ومن المعروف ان المواد الموجودة فى المستخلصات مثل الزيوت والصبغات تتداخل مع طرق التقدير مع نترات الفضة والكشف بالاشعة فوق البنفسجية . المواد المتداخلة قد تتفاعل مع نترات الفضة أو تحجب مقدرة المركبات على الكشف بالفلورسنت والطرق المستخدمة بسيطة وتتطلب خطوة واحدة للرش لاظهار البقع . يجب ان يدوم اللوح وان يكون ذا نوعية جيدة حتى يحتفظ بالكروماتوجرام لفترة كافية ويحتفظ باللوح للتصوير او للرجوع المستقبلى عند ظهور اى مشكلة قانونية . يمكن اظهار البقع بمحلول نترات الفضة « محلول ميتشل المعدل » المكون من ١,٧ جم نترات فضة تذاب فى ٢٠ ملليلتر ماء ثم يضاف ١٠ ملليلتر ٢ - فينوكسى ايثانول ثم تخفف الى ١٩٠ ملليلتر بالاسيتون وقبل الرش يضاف ١ ملليلتر من محلول ايدروكسيد الامونيوم المركز الى ١٩ ملليلتر نترات فضة من المحلول القياسى ويحتفظ بالمحلول فى مكان مظلم فى زجاجات الجواهر الكشافة . يمكن استخدام البرومين او الفلوريسين او ازرق البروموفينول بلو مع محلول نترات الفضة . كما يستخدم الرودامين Rhodomine وكذلك الاشعة فوق البنفسجية للكشف عن المبيدات الكلورينية .

* ٢ - الكشف عن المبيدات الفوسفورية العضوية باستخدام نترات الفضة :

استخدم الجوهر الكشاف نترات الفضة رشا مع البروموفينول بلو او الاستر الايثايل للتترابروموفينولفثالين للكشف عن المركبات الهالوجينية والفوسفورية العضوية كذلك . توضح الجداول (٦ ، ٧) مقارنة للفصل بين طريقة نترات الفضة وتثبيط الانزيم على الالواح الزجاجية المغطاة TLC . يتضح من الجداول ان طريقة التثبيط الانزيمى اكثر حساسية من نترات الفضة فى الكشف عن المشتقات الاكسجينية محل التقدير والكشف .

* ٣ - الكشف عن المركبات المحتوية على الكبريت او استرات حمض الفوسفوريك :

يمكن استخدام محاليل ايود وبلاثينات ، كلوروبلاتينات ، ٢,٦ - داى برومو - ن - كلورو - بارا - بنزوكوينون امين أو ن ، ٢,٦ - تراى كلورو - بارا - بنزوكوينون امين للكشف عن مركبات الثيوفوسفات والثيوكربامات . يحضر الايودوبلاتينات بخلط ٣ ملليلتر من محلول كلوريد البلاتينيوم ١٠ ٪ مع ٩٧ ملليلتر ماء ثم يضاف ١٠٠ ملليلتر ٦ ٪ يوديد بوتاسيوم ويرج ويخزن فى الظلام .

* ٤ - الكشف عن الروتينون :

يمكن الكشف عن الروتينون على الالواح الزجاجية المغطاة باستخدام الجوهر الكشاف Dragendroff's reagent الذى يحضر من كربونات البزموت (٢,٦ جم) ويوديد الصوديوم (٧,٠ جم) ويغلى المخلوط لعدة دقائق مع ٢٥ ملليلتر من حامض الخليك الثلجى . بعد ١٢ ساعة

جدول (٦) : حدود الكشف عن ١٤ مبيد فوسفورى باستخدام الألواح الزجاجية والإنزيمات ونترات الفضة والبروموفينول بلو

المبيد Pesticide	حدود التقدير Detection limit (ng) نترات الفضة Agno3 بروموفينول bromophenol بلو ble	TLC-EI[a]
Azilnphosmethyl	100	n.d.
Azilnphosmethyl-oxon	100	0.001-0.025
Coumaphos	500	n.d.
Coumaphos-oxon	500	0.01-0.1
Malathion	100-200	n.d.
Malaoxon	100	2-10
Medthyl parathion	100	n.d.
Methyl paraoxon	100	0.5-2
Parathion	100-200	n.d.
Paraoxon	100	0.025-0.5
Ronnel	100	n.d.
Ronnoxon	500	0.025
Narlene	100	n.d.
Ruelene	100	0.1-0.25

[a]n.d. = not deterctable; p = s analogs were detected only after reaching with N-bromosuccinimide or bromine.

Source : From El-Refai and Hopkins (18).

جدول (٧) : حدود الكشف بالألواح والإنزيمات والطرق الكيميائية مع ٢٣ مبيد آفات

المبيـد Pesticide	حدود التقديرات (نانوجرام) Detection limit (ng)	
	الطرق الإنزيمية Enzymatic[a] method	Chemical[b] method الطرق الكيميائية
Promophos	8	200
Dichlorvos[c]	300	ND
Dimethoate	14	500
Methyl paraoxond	10	ND
Parathion	6	700
paraoxon[c]	5	ND
Disulfoton	40	70
Ethion	60	400
Azinphosmethyl	20	100
Malathion	800	500
Methyl Trithiuon	50	50
Phorate	600	100
Mevinphos[c]	100	ND
Ronnel	10	900
Diazinon	50	200
Aldicarb[d]	50	800
Azinphosethyl	7	100
Carbophenothion	10	400
Famphur	200	600
Dimethenthoate	100	100
Dursban	90	900
Abate	80	1,400

[a]Pesticides resolved on TLC plates (250-µg thick layer of alumina G (Merck) type E) were exposed to bromine vapor before enzymatic detection.

[b]ND = not detected with the tetrabromophenol-phthalein ethyl ester and silver nitrate spray solution.

[c]Oxygen analogs.

[d]A carbamate.

Source : From Leoni and Puccetti (19).

يرشح المحلول للتخلص من بللورات خلات الصوديوم المترسبة ثم يؤخذ ٢٠ ملليلتر من المحلول الرائق ويضاف اليه ٨ ملليلتر من خلال الايثيل . عند الرش يخلط ١٠ ملليلتر من المحلول السابق ويخلط مع حامض الخليك الثلجى (٢٥ ملليلتر) مع خلات الايثيل (٦٠ ملليلتر) . بعد الرش تظهر بقع من مركبات الالكالويد والمركبات الخالية من النيتروجين .

*** ٥ - الكشف عن البير ثرينات والمنشط ببرونيل بيوتوكسيد :**

يمكن استخدام محلول رش يحتوى على احماض الفوسفوريك والتانيك والخليك للكشف عن البيرثرينات حيث تعطى لون وردى وكذلك البرونيل بيوتوكسيد التى تعطى بقع زرقاء . يحضر محول الفوسفوموليبديك - تانيك - اسيتيك بخلط ٣ ملليلتر من حمض الفوسفوريك ٨٥٪ مع ١ ملليلتر من حمض التانيك ٠,٣٣ ٪ فى حمض الخليك (وزن /حجم) مع ٢٦ ملليلتر اسيتون . ويحضر هذا المحلول مباشرة قبل الاستخدام . وهناك جواهر كشافة اخرى ، ويحضر محلول الفوسفوموليبديك آسيد من ١٠ جم حمض فوسفوموليبديك فى ١٠٠ ملليلتر من الايثانول قبل الاستخدام مباشرة .

*** ٦ - طرق جديدة مع الالواح الزجاجية المغطاة :**

(أ) طريق الالواح TLC مع النشاط الانزيمى EI :

يستخدم هذا التكنيك (TLC - EI) مع المركبات ذات النشاط فى تثبيط الانزيمات ومثال ذلك المبيدات الفوسفورية والكارباماتية . عادة تتحول المشتقات الكبريتية (فو = كب) للمبيدات الفوسفورية المى مشتقات اكسجينية (فو = أ) قبل الرش بالانزيم على اللوح الزجاجى لأن هذه المشتقات مثبطات قوية جدا للانزيم . وبعد التحويل تعرض الالواح للاشعة فوق البنفسجية أو البرومين . يزال البرومين الزائد قبل رش الالواح بمحلول الانزيم . يمكن استخدام جواهر كشافة اخرى لتحويل المركبات الى مثبطـــات قوية . يقوم الاشعة فوق البنفسجية بتنشيط معظم المركبات فو = وتحويلها وتحوينلا الى فو = أ ولكنها تعمل على انهيار مبيدات الكابامات .

توجد مصادر عديدة للاسترازات التى تصلح مع طريقة TLC - EI ومنها كبد الجاموس والخنازير والدواجن والقرود والفئران . يجب ان يكون الكبد طازجا لضمان عدم انهيار الانزيم . كذلك تعتبر بلازما الدم او السيرم أو رؤوس النمل والذباب مصادر ممتازة للاسترازات الحساسة للتثبيط بالمبيدات . وهناك التربسين والفوسفاتيز متاحة تجاريا ، قبل الرش تخفف المستخلصات الانزيمية بمحلول ٠,٠٥ مولر ذات الحموضة ٨,٣ البارد . للحصول على النشاط المطلوب على لوح الزجاج . كما يجب اختبار نشاط المستخلص الانزيمى لتحديد درجة التخفيف المناسبة . يمكن تخزين مستخلص الكبد لأكثرمن عام دون حدوث فقد مؤثر للنشاط الانزيمى وبعد ذلك يتوقع حدوث فقد كبير . أى رشاش يصلح ويشترط الا يسيل محلول الرش من على الالواح ويترك لتجف تحت درجة حرارة الغرفة .

تستخدم المواد الملونة المختلفة لاظهار البقع مثل ١ – نافثيل اسيتات ، اندوكسيل اسبتات ، اندوفينيل اسبتات ، حيث تذاب فى المثيانول او الاسيتون او الايثانول . خلال دقائق قليلة تظهر بقع او مساحات تحدد اماكن المبيدات على خلفية ملونة . حيث ان المبيدات تثبط النشاط الانزيمى فى هذه البقع يقف التحلل المائى للمادة الملونة ومن ثم لا ينتج لون . اذا استخدم دليل الحموضة مثل البروموفينول بلو تظهر بقع زرقاء على خلفية صفراء أو خلفية عديمة اللون . تظهر البقع زرقاء طالما لم يحدث تحلل مائى للشق الحامضى من المادة الوسيطة . فى بعض الطرق يرتبط الوسيط الانزيمى مثل ١ – نافثول مع ملح الديازدينوم منتجا مركبا ازو ذات لون غامق . الاندوكسيل او اندوفينيل اسيتات من احسن المواد الوسيطة لتكنيك TLC-EI حيث انها لا تحتاج لأى مواد اخرى لتكوين اللون .

الالواح التى رشت بالاندوكسيل اسيتات يمكن رشها بالبرومين بمجرد الحصول على البقع وهذه الخطوة ضرورية لايقاف التفاعل الانزيمى . الجداول التالية توضح حساسية الطرق الانزيمية مع الواح الزجاج المغطاة فى الكشف عن المركبات .

جدول (٨) : تثبيط الاسترازات بالمبيدات مع المعاملة بالبرومين او بدونه وحدود التقدير على السليكا جيل Gr HR

Pesticide	No bromine (N. Br) or with bromine (Br)	Inhibition[b,c]					Detection limit with beef esterase (ng)
		Beef	Sheep	Pig	Monkey	Chicken	
Dichlorvos : 8	N.Br	+	+	+	+	+	---
	Br	+	+	+	+	+	2
Dimethoate : 10,000	N.Br	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	---
	Br	+	+	+	+	+	8,000
Dimethoxon : 10,000	N.Br	+	+	+	+	+	---
	Br	+	+	+	+	+	8,000
Demeton-S sulfone : 50	N.Br	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	---
	Br	+	+	+	+	n.d.	10
Carbaryl : 1	N.Br	n.d.	n.d.	+	T	n.d.	---
	Br	+	+	+	T	+	0.
Ethion : 10	N.Br	+	+	+	+	+	---
	Br	+	+	+	+	+	1

Pesticide	No bromine (N. Br) or with bromine (Br)	Inhibition[b,c]					Detection limit with beef esterase (ng)
		Beef	Sheep	Pig	Monkey	Chicken	
Oxydemetonmethyl : 50	N.Br	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	---
	Br	+	+	+	+	n.d.	50
Demeton : 50	N.Br	n.d.	n.d.	+	+	n.d.	---
	Br	+	+	+	+	n.d.	20

[a]Figure after each pesticide name was amount (ng) spotted on plates.

[b]+ = detectable; n.d. = not detectable ; T = detection with enzyme extracted with gris buffer, not with water; - = tested, 5-bromoindoxyl acetate was used as substrate.

[c]Esterases were extracted with 0.01 M tris buffer at pH 7.2 or with distilled water and centrifuged at 2000 to 3000 g.

Source : From Mendoza et al. (37)

جدول (٩) : حدود التقدير لخمسة وعشرون مبيد فوسفورى باستخدام ثلاثة انواع من الكولين استريز ChE .

pesticide	Amount detected[a] (ng) Horse serum ChE	Bovine erythrocyte ChE	Eel ChE
Naled	1	1	10
Dichlorvos	5	30	40
Dimethoate	300	200	200
Dimethoxon	50	50	100
Methyl parathion	30	1	10
Parathion	1	1	1
Demeton-O	1,000	2,000	50
Trichlorfon	1,000	1,500	1,000
Coumaphos	1	20	10
Disulfoton	50	50	50
Ethion	1	100	100
Azinphosmethyl	1	1	1
Malathion	35	1	1
Phorate	5	50	30
Mevinphos	10	5	10
Ronnel	5	100	200
Diazinon	1	50	30
Carbophenothion	5	50	50
Phosphamidon	10	200	10
Pensulfothion	5	20	50
Dyfonate	50	10	20
EPN	5	10	5
Fenthion	100	500	300
Dioxathion	10	200	100
Famphur	20	50	100

[a]Pesticides resolved on silice gel G or GF; the enzyme substrate was indoxyl acetate.

Source : From Gardner (38).

جدول (١٠) : حدود التقدير لاثنى عشر مبيد كارباماتى على طبقات كيسلجيل G-HR بطريقة TLC-EI مع مستخلصات كبد الخنزير .

	Liver extracts			
	Pig		Steer	
Pesticidea	Frozen	Frozen-dried	Frozen	Freeze-dried
Aldicarb	50 (±)b	100 (±)	100 (±)	100 (±)
	30 (-)	50 (-)	50 (-)	50 (-)
Banol	0.5 (±)	15 (±)	5 (±)	10 (±)
	0.1 (-)	1 (-)	1 (-)	5 (-)
Baygon	10 (±)	50 (±)	100 (±)	100 (±)
	5 (-)	10 (-)	50 (-)	50 (-)
Carbaryl	0.1 (±)	0.5 (±)	0.5 (±)	5 (±)
	0.05 (-)	0.1 (-)	0.1 (-)	1 (-)
Carbofuran	1 (±)	50 (±)	100 (±)	100 (±)
	0.5 (-)	10 (-)	50 (-)	50 (-)
Carbofuran 3-OH	10 (±)	100 (±)	100 (±)	400 (±)
	5 (-)	50 (-)	50 (-)	300 (-)
Matacil	10 (±)	50 (±)	50 (±)	50 (±)
	5 (-)	10 (-)	10 (-)	10 (-)
Mesurol	0.1 (±)	10 (±)	10 (±)	10 (±)
	0.05 (-)	5 (-)	5 (-)	5 (-)
Mobam	0.5 (±)	1 (±)	5 (±)	5 (±)
	0.1 (-)	0.5 (-)	1 (-)	1 (-)
Ortho 5353	1 (±)	5 (±)	5 (±)	5 (±)
	0.1 (-)	0.5 (-)	1 (-)	1 (-)
Tranid	100 (±)	400 (±)	300 (±)	100 (±)
	50 (-)	400 (-)	200 (-)	50 (-)
Zectran	100 (±)	500 (±)	300 (±)	100 (±)
	50 (-)	400 (-)	200 (-)	50 (-)

aTranid = 5 - chloro-6-oxo-2-norbornanecarbonitrile 0- (methylcarbamoyl) oxime (Union Carbide), 99.9%. Zectran = 4-dimethylamino-3,5-xylyl methylcarbamate (Dow Chemical Company, The Agricultural Products Department, Midland, Mich.), 99%. All the standards were dissolved in methanol and kept in refrigerator.

b(+) = TLC spots corresponding to the areas where enzymes were inhibited lasted 5 min; (++) = lasted more than 5 min but less than 30 min; (+++) = 30 min or more. (±) = spots lasted 1-2 min, and (-) = no enzyme inhibition detected. TLC plates were coated with 450-m-thick layer of kiesel-gel G-HR. the solvent was 20% acetone in cyclohexane.

Source : From Mendoza and Shields (36).

جدول (١١) : حدود الكشف عن المبيدات الحشرية الكلورينية مع المعاملة بالاشعة فوق البنفسجية UV أو بدون .

	Detection Limit (µg)			
	Withou UV		With UV	
Pesticide	Bovine liver esterase	Trypsin	Bovine liver esterase	Trypsin
p,p'-DDT	5[a]	100[c]	1	6
p,p'-DDE	5[a]	100[c]	1	6
p,p'-DDE	6[a]	---	1	6
Dicofol	1	70	1	6
Methoxychlor	5[a]	70	1	6
Perthane	2[a]	---	1	6
BHC	---	---	1	5
Lindane	1	---	0.25	20
Isodrin	50	100[c]	0.25	6
Endrin	50	---	0.3	7
Aldrin	10	100[c]	0.25	5
Dieldrin	1	---	1	7
Heptachlor	1	---	0.25	5
Heptachlor epoxide	1[b]	---	0.3[c]	7
Chloridane	5[b]	---	1[b]	9
Isobenzan	5	---	0.25	6
Endosulfan	5	---	0.3	7
Toxaphene	1[b]	---	1[b]	20

aActivation of enzyme.
bSpots tailing
[c]Not clearly detected.
Source : Data from Geike (38, 40).

ب) طريقة الالواح والانزيم الغير مباشرة An Indirect TLC-EI :

ليست مفيدة بنفس قدر الطريقة المباشرة وفيها تطبع البقع التى تحدثها المبيدات المثبطة للانزيم على الالواح الزجاجية على ورق ترشيح باستخدام جوهر كشاف معين يمسك على اللوح .. والجدول (١٢) يوضح الفرق بين هذه الطريقة وغيرها مع ١٧ مبيد فوسفورى .

جدول (١٢) : حدود تقدير ١٧ مبيد فوسفورى على السليكا جيل H بثلاث طرق للكشف .

Pesticide	Detection Limit[a] (μg)		
	Method A[b]	Meghod B[b]	Method C[b]
Azinphosmethyl	0.5	0.1 (blue)	1
Demeton-O	0.2	0.2 (mauve)	1
Demeton-5	0.5	0.2 (blue)	1
Diazinon	0.1	0.2 (Mauve)	0.2
Dimethoate	0.2	0.1 (blue)	0.2
Ethion	0.5	<0.1 (mauve)	1
Malathion	0.5	0.1 (mauve)	1
Mevinphos	0.2	n.d.	1
sMorphothion	1	<0.1 (blue)	0.2
Methyl parathion	0.5	0.1 (mauve)	1
Phenkapton	0.2	0.1 (bluc)	1
Phorate	1	0.2 (blue)	1
Phosphamidon	1	0.2 (blue)	n.d.
Ronnel	0.1	0.2 (mauve)	n.d.
Schradan	n.d.	n.d.	n.d.
Vamidothion[c]	n.d.	0.1 (blue)	0.2
Vamidothion sulfone[c]	n.d.	0.1 (blue)	0.2

[a]n.d. = not detecltable.

[b]A = indirect TLC-EI technique; B = bromothymol blue-UV light; C = bromothymol blue-bromine; colors of spots in parentheses.

[c]Destignation used by author in literature cited.

Source : From Bunyan (24)

(جـ) الالواح المغطاة ذات البعدين Two dimentional TLC :

استخدم هذا التكنيك للكشف عن البيرثرويدر والمركبات الاخرى .. وتوضح الجداول (١٣ ، ١٤) قيم الانسياب لبعض البيرثرويدر والمبيدات الفوسفورية . فى هذا التكنيك يتم التطور فى المحلول المتحرك مرتان فى اتجاهان ١ - .

(د) الالواح ذات الوسط المعكوس Reverse-phase TLC :

استخدم هذا التكنيك للكشف عن المبيدات حيث يتم تشميع او تغليف الالواح المغطاة بحمض السليسيك بزيت او زيت السليكون (وسط ثابت) قبل الفصل . الجدول (١٥) يحتوى على قيم الانسياب RF للمبيدات مع هذا النظام .

جدول (١٣) : يتم الإنسياب RF × ١٠٠ لمركبات البيرثريودز مع ٣ : ١ هكسان : خلات الإثيل

Compound	First development	Second development
Pyrethrin I	50	60
II	30	41
Cinerin I	57	72
II	35	49
Pyrethrin I peroxide	--	23
II peroxide	--	11
Cinerin I peroxide	--	37 (23)
II peroxide	--	17
"Lumipyrethrin"	--	0
Allethrin	48	--
Piperonyl butoxide	35	--
Bucarpolate	23	--
S 421	67	--
Butter yellow	42	53
Indophenol	35	45
Sudan red G	27	36

Source : From Stahl (41).

جدول (١٤) : متوسط قيم الإنسياب RF للمبيدات الفوسفورية على الواح السليكاچيل

Pesticide	Rf values[b,c]	
GROUP I	Solvent I	Solvent 11d
Ronnel	0.91	0.83
Carbophenothion	0.90	0.50, 0.88
Carbophenothion oxygen analog		0.88
Carbophenothion oxygen analog sulfoxide		0.50
Plhorate	0.79	0.47, 0.90
Dyfonate	0.75	0.61
Ethion	0.74	0.41
EPN	0.74	0.82
Fenthion	0.71	0.05, 0.25
Disulfoton	0.71	0.22
Parathion	0.67	0.72
Methyl parathion	0.60	0.56
Thiono demeton	0.45	0,82e
Dioxathion	0.16, 0.35f	0.26, 0.37
Coumaphos	0.24	0.59
Malathion	0.12	0.65
Aziknphosmethyl	0.07	0.44
Diazinon	0.07	0.53
GROUP II	Solvent II	Solvent III[d]
Famphur	0.87	0.64
Naled	0.82	0.96
Thiol demeton	0.76	0.52
Dichlorvos	0.70	0.89
Mevinphos	0.54	0.79
Phosphamidon	0.23, 0.48[f]	0.51, 0.77
Dasanit	0.40	0.66
Dimethoate	0.34	0.13
Trichlorfon	0.25	0.55, 0.89
Dimethoate oxygen analog	0.05	0.13

[a]Average of 10 determinations. Chromatography performed using a sandwich chamber at 23 to 26°C and from 50 59 65' relative humidity. Detection by horse serum cholinesterase inhibition and p-NBP.

[b]Solvent systems : I = toluene, II = 25' heptane in ethyl actate, III = ethyl acetate.

[c]Rf values of all group II pesticides in solvent system I were less than 0.05. Rf values of group I pesticides in solvent system II (development before oxidation) were greater than 0.85.

[d]Rf values of bromine oxidation products.

[e]Nonreproducible Rf value. May depend on concentration of bromine.
Two spots were present with both detection reagents. highest Ff value for phosphamidon represented stronger inhibitor, but p-NBP indicated it was a minor component.
Source : From Gardner (38)

Table 15. Rf (x 100) Values of Some Organic Phosphate Insecticides by Reverse-Phase Thin-Layer Chromatography[a]

Insecticide	Silicic acid-mineral oil	Silicic acid-silicone oil
Colep	20	37
EPN	12	25
Methyl parathion	35	50
Paralthion	25	30
P-Nitrophenol[b]	65	87
Phjenol[b]	50	70

[a]Developing solvent : ethanol-water (1 : 1 : 2).
[b]Reference materils.
Source : From Conkin (2)

(هـ) تسجيل الكروماتوجرام Revording of the chromatogram :

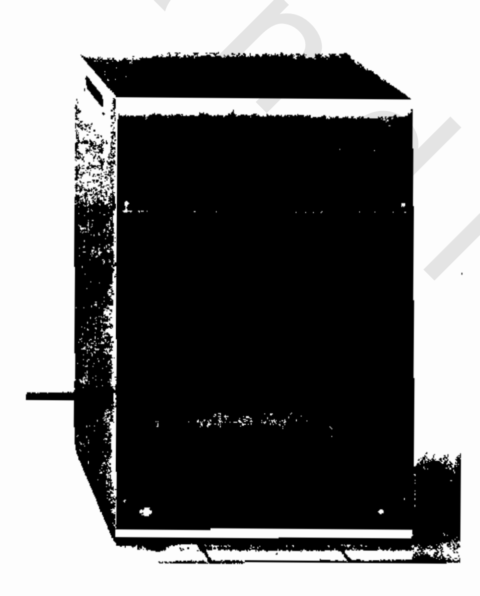
يمكن تسجيل الكروماتوجرام بطرق متعددة منها التحوير أو التصوير الفوتوغرافى او الرسم بالاشعة أو قياس الكثافة الضوئية « سبكترودينسيومترى » او تسجيل قيم الانسياب Rf ومساحة البقع . يجب تسجيل نوعية وكثافة الكروماتوجـــرام ويمكن تصنيفها الى باهت ± Faint أو كثيف ± intense أو كثيف جدا ++ very intonse .. يمكن تسجيل لون البقعة وخلفية اللواح كما يجب ملاحظة الوقت الذى فصلت فيه البقعة ودوامها . يمكن تحديد مكان البقعة فى حالة ما اذا كانت ستختفى او ستكشف بعد ذلك للتقدير الكمى .

(و) التحديد الكمى للكروماتوجرام **Quantitation** :

هناك طرق مختلفة للتقدير الكمى للمركبات بعد الفصل على الالواح المغطاة TLC . من هذه الطرق مقارنة مساحة المركب الغير معروف فى مقابل المساحة الخاصة بالكمية المعلومة للمركب القياسى المقارن للمجهول . بالطبع يجب تعريف المركب المجهول قبل عمل هذه المقارنة . ولقد قارن kumar واخرون عام ١٩٧٦ مساحة ووزن البقع والطرق اللونية للباراثيون كبارا اوكسون . واظهرت العلاقة بين مساحات التثبيط بالملليمتر المربع او المللیجرام فى مقابل تركيز الباراثيون علاقة خطية فى حدود ٥ الى ٥٠ نانوجرام باراثيون .

هناك طريقة اخرى تتمثل فى قياس الكثافة الضوئية للمساحة على اللوح حيث تم وضع المبيد باستخدام جهاز قياس الطيف . يمكن استخدام المركبات المشعة والكشف عنها على الواح TLc بواسطة العداد المناسب مباشرة او بعد كشط الجيل .

استخدم نترات الفضة ونظام DTLC-EI لتقدير المبيدات الفوسفورية المحتوية على الكلورين فى الجزئ .



شكل (١٠) : جهاز قياس النشاط الإشعاعى على الألواح المغطاه TLC

يمكن ايضا استخدام الكروماتوجرافى الغازى السائل GLC للتقدير الكمى للمبيدات بعد فصلها من على الجيل وتنظيفها خاصة فى حالة المبيدات الكلورينية . ويوضح الجدول رقم (١٦) معدلات الاسترجاع لهذه المبيدات على السليكاجيل او الالومينا . يمكن ايضا بعد كشط البقع المفصولة ان تجرى عليها عمليات تحليل مائى ونفاعلها وتحولها الى مشتقات ثم تذاب فى مذيب عضوى مناسب والكشف بالكروماتوجرافى الغازى .

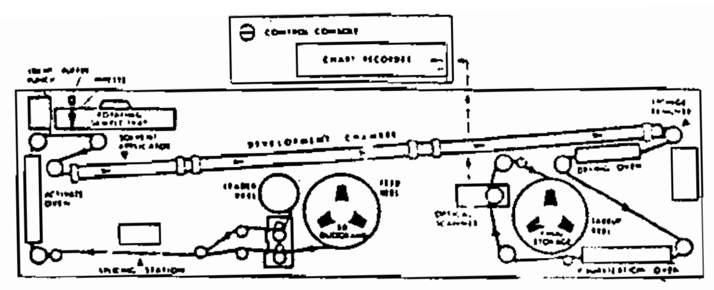
استخدم Seifert and Davidak عام ١٩٧١ الطرق البولاروجرافية فى التقدير الكمى للفينتروثيون والفينترواوكسون بعد الكشف والفصل بالـ TLC-EI والتنظيف من خلال عمود الكروماتوجرافى وتراوح الانحراف القياسى ٢٦٪ بينما وصل الانحراف فى البلانيميتر ٢٠٪.

جدول (١٦) : معدل الإسترجاع للمبيدات على الواح الكروماتوجرام

pesticide	layerq	Percent recovery				
		Hexane	Acetone	Ethyl acetate	Dichloromethane	Chloroform
Gamma-BHC.	S	82	72	64	51	61
	A	77	65	64	43	57
p,P'-DDT	S	96	89	89	80	89
A	87	75	83	80	84	
Dieldrin	S	94	97	91	88	92
A	88	79	84	79	82	
Endrin	S	94	98	93	88	94
A	88	80	85	79	84	
Heptachlor epoxide	S	92	89	84	74	80
A	84	72	76	67	75	
p,P'-TDE	S	99	95	89	86	93
A	87	77	82	80	83	
p,P'-DDE	S	95	97	98	90	95
A	88	79	83	82	84	

aS = silica gel G; A = alumina G. Quantitation hy gas-liquid chromatography.
Source : From Harrison (28).

والان .. تقسم البقعة المفصولة الى مساحات صغيرة جدا وتقاس بالدينسيوميتر حتى نقلل من احتمالات الانحراف القياسى . حديثاً ظهرت فى المعامل وحدات متكاملة تعمل آليا (شكل - ١١) تقوم بوضع النقط والفصل والاظهار وقياس الكثافة الضوئية أوتوماتيكيا .



FLOW DIAGRAM OF CHROMATAPE PROCESSOR

* ٧ - الاختبارات التأكيدية Confirmation :

يمكن فصل المركب القياسى مع المركب محل الاختبار للتأكد من التعريف . كذلك يمكن كشط البقعة وتحليلها بالكروماتوجرافى الغازى مع المركب القياسى . يمكن استخدام Gc-mass (الكروماتوجرافى الغازى مع طيف الكتلة) وهذا يمكن عمله قبل او بعد الفصل بالالواح او بالـ Glc . كذلك يمكن استخدام التحليل بالاشعة تحت الحمراء للتأكيد كما فى حالة مبيد الروتينون .

* ٨ - العوامل التى تؤثر على كفاءة الفصل بالـ TLC :

* العوامل التى تؤثر على قيم معامل الانسياب Rf كما يلى :

١ - نوع مادة الادمصاص (الوسط الثابت)

٢ - نوع المذيب او مخلوط المذيبات (الوسط المتحرك)

٣ - نوع الوسط الغير متحرك (الزيت المعدنى او السليكون) .

٤ - درجة الحرارة (جدول ١٧) .

٥ - الضغط البخارى (تشبيع المذيب) فى حجرة الكروماتوجرافى .

٦ - سمك طبقة الجيل .

٧ - النشاط السطحى للجيل فى ادمصاص المركب محل الكشف .

* العوامل التى تؤثر فى الكشف عن المركب detection :

١ - كمية المركب تحت الاختبار على لوح الـ TLC .

٢ - انهيار أو تنشيط مركب الاختبار خلال الكروماتوجراف .

٣ - المواد المتداخلة مثل الزيوت والصبغات فى المستخلص .

٤ - نوع مادة الادمصاص .

٥ - الملوثات على اللوح الزجاجى او على طبقة الجيل او فى حجرة الكروماتوجرافى او فى المعمل

جدول (١٧) : إختلاف قيم RF مع حرارة الكشف

Compound	Rf x 100 at temperature (°C)					
	-20	0	10	20	30	40
Aldrin	33	55	68	77	85	90
p,P'-DDE	27	49	60	70	80	90
o,P'-DDT	20	37	50	58	68	77
p,P'-DDT	17	31	40	48	58	70
Dieldrin	1	7	10	12	12	12
Endrin	2	9	10	11	12	12
Heptachlor	22	45	55	65	75	86

Source : From Abbott et al. (42).

جدول (١٨) : جدول الكشف للمركبات الفوسفورية العضوية مع وبدون المعاملة

Resticide	Detection limit (ng)a]				
	No treatment	Bromine vapor (0.5 min)	Bromine water (15 min)	UV light (20 min)	Aqueous ammonia (15 min)
Butonate	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	5
Coumaphos	n.d.	5	1	1	n.d.
Coumaphos-oxon	0,05	0.5	0.05	0.05	0.1
Disulfoton	n.d.	7	5	50	n.d.
Ethion	n.d.	0.5	0.5	0.1	n.d.
Ethoxon	0.1	0.2	0.2	0.1	0.1
Azinphosmethyl	n.d.	0.2	0.05	1	n.d.
Azinphosmethyl-oxon	0.02	0.2	0.02	0.02	0.02
Malathion	n.d.	0.k5	0.1	10	n.d.
Malaoxon	0.05	0.5	0.05	0.05	0.05
oxydemetonmethyl	10	10	10	10	10
Methyl Trithion	n.d.	0.5	0.05	1	n.d.
Methyl Trithion-oxon	0.5	2	1	0.5	1
Phorate	n.d.	5	5	50	n.d.
Phoratoxon sulfone	1	5	2	1	2
Mevinphos	0.1	n.d.	n.d.	1	n.d.
Ronnel	n.d.	1	0.05	5	n.d.
Ronnoxon	0.05	0.5	0.05	0.05	0.1

an.d. = not detectable.

Source : Form Ackerman (41).

جدول (١٩) : تأثير البرومين والأشعة فوق البنفسجية على مصل ١٢ مبيد كارباماتى ثم وضعه على الكيسلچين والرش بمستخلص الكبد

Compounds	Levels Evaluated (ng)	Br_2	UV
Aldicarb	1000	Slight decrease	Decrease
Banol	10	Decrease	Decrease
Baygon	100	Decrease	Decrease
Carbofuran	10	Increase	Decrease
Carbofuran 3-OH	1000	Slight increase	Decrease
Mesurol	10	Slight increase	Decrease
Mobam	10	No change	No change
Ortho 5353	100	No change	No change
Tranid	100	No change	No change
Zectran	100	Decrease	Decrease

Source : From Mendoza and Shields (36).

٦ – تلوث الحقنة أو محقن العينة أو زجاجة العينة والمذيبات المستخدمة لاذابة العينة .

٧ – الشوائب فى الوسط المتحرك .

٨ – السمك الغير مناسب للجيل .

٩ – تداخل قيم الانسياب RF .

١٠ – نوعية وكمية جوهر الكشف (يجب استخدام محلول الانزيم او محلول الرش الملون المجهزة حديثا (الطازجة) .

١١ – وقت التعرض الى العوامل المنشطة مثل الاشعة فوق البنفسجية UV او البرومين او اليود (يجب تقدير فترة التعرض المثلى لهذه العوامل) .

١٢ – الشوائب فى الغاز المستخدم لتركيز العينة .

١٣ – نوع المنشط (جدولى ١٨ ، ١٩) .

١٤ – نوع الجواهر الكشافة الخاصة بالاظهار .

١٥ – نوع الانزيم المستخدم فى طريقة TLC-EI .

قائمة المراجع REFERENCES

1 . Stahl, thin Layer Chromatography. A Laboratory Handbook, Springer Verlag, Berlin, 1965, p. 553.

2 . R.A. Conklin, Residue Rev. 6, 136 (1964).

3 . D.C. Abbott and J. Thomson, Residue Rev. 11, 1 (1965).

4 . J.J. Wise, in Analytical Methods for Pesticides, Plant Regulators and Food Additives, Vol. 5 (G. Zweig, Ed.). Academic Press, New York, 1967, p. 47.

5 . M.E. Getz, in Advances in Chemistry Series 104 (R.F.Gould, Ed.). American Chemical Society, Washington, D.C., 1971, p. 119.

6 . C.E. Mendoza, J. Chromatogr. 78, 29 (1973).

7 . K. Macek, I.M. Hais, J. Kopecky, and J. Gasparic, J. Chromatogr. Suppl. (1968).

8 . K. Macek, I. M. Hais, J. Kopecky, J. Gasparic, V. Rabek, and J. Churacek, J. Chromatogr, Suppl. 2, 532 (1972).

9 . K. Macek, I. M. Hais, J. Kopecky, V. Schwarz, J. Gasparic, and J. Churacek, J. Chromatogr. Suppl. 5, 340 (1976).

10 . C.E. Mendoza, Residue Rev. 43, 105 (1972) .

11 . C.E. Mendoza, Residue Rev. 50, 43 (1974).

12 . C.E. Mendoza, P. J. Wales, and D. F. Bray, Analyst, 93, 638 (19k68).

13 . R. J. Hurtubise, kP.F. Lott, and J. R. Dias, J. Chromatogr. Sci. 11, 476 (1973).

14 . P.F. Lott, J. R. Dias, and R. J. Hurtubise, J. Chromatogr. Sci. 14, 488 (1976).

15 . H.G. Lowelady, Microchem, J. 14, 22 (1969) .

16 . D. J. Hamilton and B. W. Simpson, J. Chromatogr. 39, 186 (1969).

17 . A. Çruene, K. Nendel, Th. Pahi, K. Schubert, and G. Woff, J. Riechst. Aromen. Doerperflegem 19, 4949, 496, 498, 500 (1969).

18 . A E]-Refai and T.L. Hopkins, J. Agric. Food Chem. 13, 477 (1965).

19 . V. Leoni and G. Puccetti, II Farmaco 26, 283 (1971).

20 . R.W. Frei and P.E. Belliveau, J. Chromatogr,. 5, 392 (1972).

21 . S. Sinnappa and E. T. Chang, Malaysian Agric. 48, 20 (1971).

22 . B.M. Olived, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 65, 915 (1973).

23 . C.E. Mendoza and J. B. Shields, J. Agric. Food Chem. 21, 178 (1973).

24 . P.J. Bunyan, analyst 89, 615 (1964) .

25 . D.G. Crosby, E. Leitis, and W.L. Winterlin, J. Agric. Food Chem. 13, 204 (1965).

26 . N.V.M. Kumar, dK. Visweshwaqriah, and S.K. Majunder, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 59, 641 (1976).

27 . Z. Stefanac, B. Stengl, and Z. Vasilic, J. Chromatogr. 124, 127 (1976).

28 . R.B. Harrison, J. Sci. Food Agric. 17, 10 (1966) .

29 . C. E. Mendoza, P. J. Wales, H. A. McLeod, and W. P. Mckinley, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 51, 1095 (1968).

30 . J. Seifert and D. Davidek, J. Chrometogr, 59, 446 (1971).

31 . C.E. Mendoza, P. J. Wales, M. A. McLeod, and W.P. Mckinley, analyst, 93. 34 (1968).

32 . H. Ackermann, B. Luxow, and E. Plewka, J. Chromatogr, 44, 414 (1969) .

33 . R. R. Goodall, J. Chromato0gr, 78, 153 (1973).

34 . P. J. Wales, C. E. Mendoza, H. A. McLeod, and W. P. Mckinley, Analyst 93, 691 (1968).

35 . N. Nash, P. Allen, A. Bevenue, and H. Beckman, J. Chromatogr. 12, 421 (1963).

36 . C. E. Mendoza and J. B. Shields, J. Chromatogr, 50, 92 (1970).

37 . C. E. Mendoza, P. J. Wales, D. L. Grant, and K. A. McCully, J. Agric. Food Chem. 17, 1196 (1969).

38 . A. M. Gardner, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 54, 517 (1971).

39 . F. Geike, J. Chromatogr, 44, 95 (1969).

40 . F. Geike, J. Chromatogr, 52, 447 (1970).

41 . E. Stahl, Arch. Pharm. 293/65, 531 (1960).

42 . D.C. Abbott, H. Egan, and J. Thomson, J. Chromatogr, 16, 481 (1964).

43 . H. Ackermann. J. Chromatogr. 44, 414 (1969).

44 . C.E. Mendoza, H. A. McLeod, J.B. Shields, and W. E. J. phillips, Pestic. Sci. 5, 231 (1974)

الفصل الثالث عشر

– الكروماتوجرافى الغازى والغازى السائل .

* مقدمــــة .
* اساسيات الكروماتوجرافى الغازى والغازى السائل .
* المكونات الاساسية لأجهزة الكروماتوجرافى الغازى .

أولا : مجموعة الغاز الحامل .

ثانيا : وحدة الحقن .

ثالثا : الاعمدة والفرن .

١ – مواصفات العمود المناسب .

٢ – العوامل المحددة لكفاءة العمود .

٣ – تجهيز العمود .

٤ – تهيئة العمود .

٥ – تقويم العمود .

رابعا : خطوات التشغيل والحقن .

خامسا : الكشافات :

١ – كشاف التوصيل الحرارى .

٢ – كشاف التأين باللهب .

٣ – كشاف صائد الالكترونات .

٤ – كشاف التنقيط الالى الدقيق .

٥ – كشاف اللهب الضوئى .

٦ – كشاف التأين باللهب القاعدى .

سادسا : المكونات الالكترونية الاساسية .

سابعا : تحضير المشتقات .

ثامنا : التحليل الوصفى .

تاسعا : التقدير الكمى



الكـروماتوجـرافي الغـازى والغـازى السـائل

Gas Chromatography and Gas liquid Chromatography

مقدمـــــــة :

كما سبق القول شاع استخدام الكروماتوجرافى الغازى بصورة كبيرة فى مجالات عديدة مثل البيئة والمبيدات وهى سريعة ودقيقة وتفيد فى فصل المخاليط والتقدير النوعى والكمى وشاعت الآن الكشف المتعدد للمخلفات multi residue . اساس هذه الطريقة سرعة سريان سائل او غاز ويمكن التفرقة بين المركبات على اساس فرق الهجرة خلال منطقة مساحية ادمصاصية ويعتمد على فصل المكونات المبخرة اى فى الصورة الغازية والموزعة بين الوسط الثابت وهو مادة العمود والوسط المتحرك وهو الغاز الخامل . ليكن معلوما ان الوسط الثابت فى جهاز الكروماتوجرافى الغازى السائلى GLC عبارة عن سائل غير متطاير موزع على المادة الصلبة الجافة . يمكن تشبيه طريقة الفصل الكروماتوجرافى الغازى بطريقة التقطير الجزئى حيث يقوم عمود الفصل اللونى بعمل وحدة التقطير .

يمكن حساب الحجم من الغاز اللازم لاخراج المركب وتوصيله الى وحدة الكشف والذى يطلق عليه Retention volume من المعادلة : VR = TRFR .

TR = الوقت اللازم مروره من وقت حقن العينة وحتى رسم قمة المنحنى وهى اختـــــصار Re-tention time أو وقت الاحتجاز .

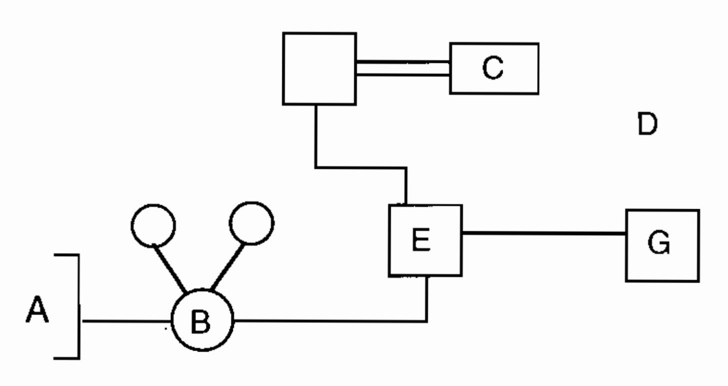
FR = معدل الانسياب Flow rate اى سرعة سريان الغاز الحامل وهو يقاس بمقياس الضغط ودرجة الحرارة .

* اساسيات الكروماتوجرافى الغازى والغازى السائل :

تحقن العينة فى فتحة الدخول (C) فى الرسم التوضيحى حيث تكون الحرارة مرتفعة ومضبوطة تبعا للمادة أو المواد المراد فصلها والكشف عنها حيث تقابل الغاز الحامل الساخن الداخل من المخزن (A) خلال منظم الضغط (B) ويقوم الغاز الساخن بحمل العينة خلال عمود الفصل اللونى (D) والمواد المفصولة تكشف بواسطة الكشاف (F) حيث تسجل النتائج على ورق خاص يمكن باستعمال التجميع التجريبى للغاز الناتج عن النقطة (G) اجراء عمليات تحليل اخرى للتأكد من المواد المفصولة .

---

* لقدم استرشدت بمحاضرات الزميل المرحوم أ . د. عبد المطلـــب شعبان استاذ المبيدات بكلية الزراعة جامعة عين شمس . والزميل أ . د . عبد السلام حسين قنصـــوة « رئيس قسم وقاية النبات » بكلية الزراعة جامعة عين شمس .



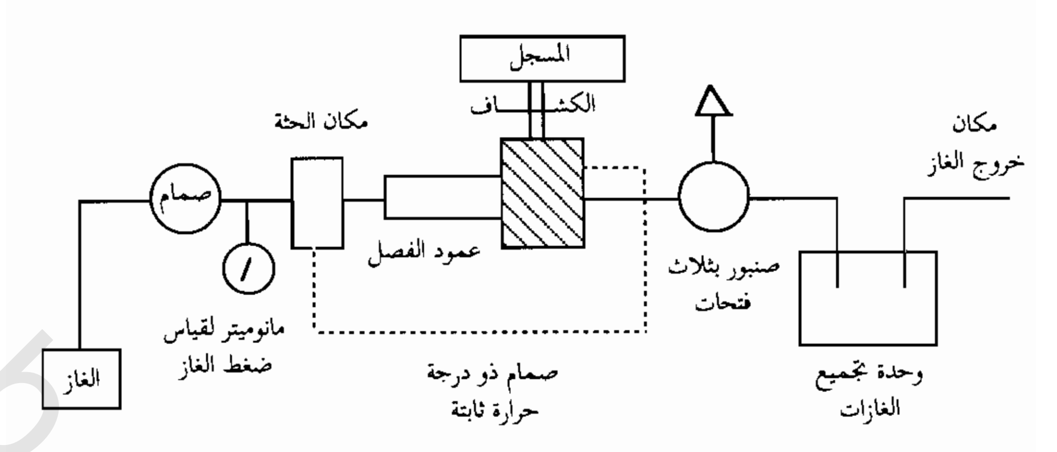
يطلق على الغاز الحامل الخامل الوسط المتحرك وهو يتدفق بمعدل سريان مضبوط من خلال منظم الضغط خلال عمود الفصل المعبأ بمادة صلبة مدعمة محمل عليها الوسط السائل او الثابت . يتم توزيع مكونات العينة بين هذين الوسطين بدرجات مختلفة وتبعا لمعامل التوزيع Partition Coefficient ويعتمد لحد كبير على درجة الحرارة وبعد تجزئ مكونات العينة يحدث الانتشار والانتقال لمسافات تتوقف على كتلة كل مركب وفى النهاية تخرج المكونات من العمود الى الكشاف ويعرف كل مركب بمعيار Rt اى وقت الحبس أو الحجز .

وكما سبق القول فان الوقت من حقن العينة وحتى ظهور قمة المنحنى على الكروماتوجرام Tt تدعو أن يتساءل اى باحث عن سبب اتساع المنحنى من بداية الحقن والاجابة ان تركيز المادة يكون عالياً فى هذه المنطقة ويحدث الاتساع بسبب حركتها مع الغاز الحامل وتعرضهاللانتشار الدوامى والانشار الطولى والانتقال الكتلى . عندما تحدث مقاومة للانتقال الكتلى فى العمود يحدث عدم اتزان وقتى لجزيئات المذاب بين الوسطين الغازى والسائل وهذا من اهم اسباب اتساع المنحنى . لذلك يمكن القول ان ظهور منحنى متسع يعنى عدم إتزان النظام بسبب الانتقال الكتلى البطئ فى العمود وفى هذه الحالة تعالج الظروف من حرارة وسريان غاز وضغط بما يحقق الاتزان واختفاء هذه الظاهرة .

لقد آثرت الا اطيل فى تفسير هذه الظاهرة حتى لا احدث بلبلة للقارئ ومن يريد مزيد من التفاصيل ان يرجع للمراجع المتخصصة وهى كثيرة .

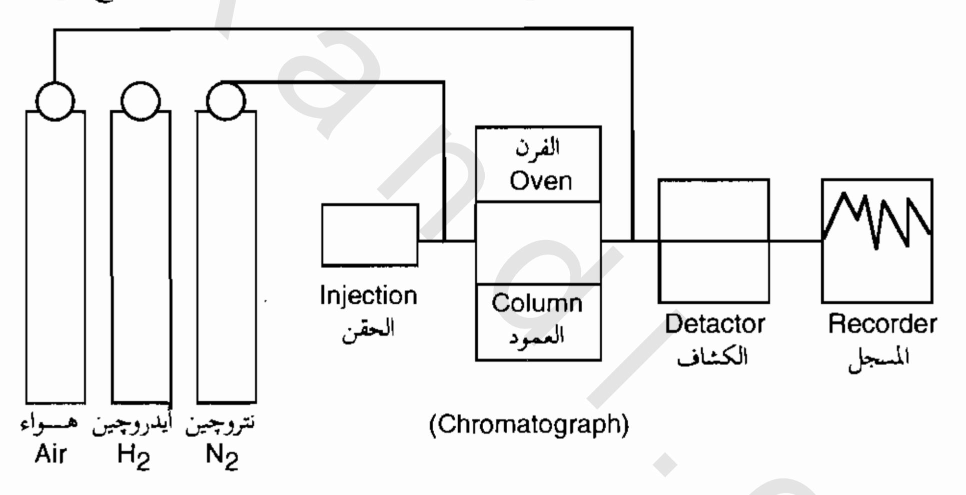
**** المكونات الاساسية لأجهزة الكروماتوجرافى الغازى :**

يتكون جهاز الكروماتوجرافى الغازى من مجموعة الغاز الحامل ومكان حقن العينات والعمود والفرن والكشاف وكذلك يقاس فرق الجهد وضابط درجة الحرارة للفرن والمسجل .. والرسم التالى يوضح مكونات احد اجهزة الكروماتوجرافى الغازى والاخرى مع الغاز السائلى GLC وبالرغم من التطور الهائل الذى حدث فى هذه الاجهزة الا ان الاساسيات كما هى :



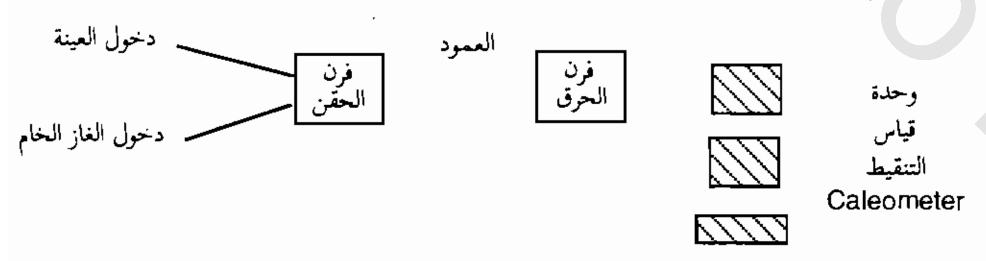
شكل (١) : رسم تخطيطى مبسط لجهاز الكروماتوجرافى الغازى .

توضع العينة فى الجهاز بالحقن اثناء مرور الغاز الخامل فى عمود الكروماتوجرافى وعندما تخرج المكونات من العمود يحس بها الكشاف ويستجيب بدرجات معينة يتم تسجيلها على المسجل . يمكن جمع الاجزاء الخارجة من العمود والكشف عنها كميا ونوعيا باستخدام وحدة الاشعة تحت الحمراء او فوق البنفسجية . ويوجد فى الاجهزة وحدات لقياس تدفق الغاز الخارج من العمود



شكل (٢) : رسم تخطيطى لجهاز الكروماتوجرافى الغاز – السائل .

وفيما يلى رسم تخطيطى لجهاز الكروماتوجرافى الغازى ذو التنقيط الدقيق وله استخدامات خاصة .



فى هذا الجهاز يمر الغاز الحامل للمادة المطلوب الكشف عنها الى فرن الاحتراق فتتحول الى غاز يمثل المركبات الغير عضوية وتحتوى انبوبة الاحتراق على الاكسجين والبلاتين مما يسمح بتحطيم المركب على درجة ٨٠٠ – ٨٢٥ م وتتحول الى ثانى اكسيد الكبريت تبعا لتركيب المركب . عند وصول نواتج التكسير هذه الى خلية التنقيط الاوتوماتيكية تجرى عملية التقدير وتختلف مكونات خلية التنقيط تبعا للمادة المطلوب الكشف عنها فاذا كانت ستكشف عن هاليد يجب ان تحتوى على الكترود فضة والكترود خلات فضة فى وجود حامض خليك ٨٥٪ . فى حالة قياس ثانى اكسيد الكبريت تحتوى الخلية على الكترود بلاتين والاخر فضة مع يوديد الفضة فى محلول يتكون من ٠,٤ حامض خليك مع ٠,٤ ٪ يوديد بوتاسيوم . يستخدم هذا الجهاز فى تقدير مخلفات المبيدات وقد حدثت فيه تطويرات كثيرة .

توجد بعض الاجهزة ثنائية الغرض حيث تحتوى على مكونات الكروماتوجرافى الغازى العادية والثانى وحدة قياس المواد المشعة مثل السترينيوم H3 والكربون المبشع C14 ، وسوف نشير بالتفصيل الى هذه الاجهزة .

يمكن القول ان الاختلافات بين الاجهزة تنحصر فى ثلاث نقاط : (١) حجم العمود ، (٢) نوع الكشاف ، (٣) طريقة تحقيق الحرارة الثابتة . سوف نتناول فى هذا المقام وباختصار شديد بعض التفصيلات عن مكونات اجهزة الكرماتوجرافى GC أو GLC :

*** اولا : مجموعة الغاز الحامل carrier gas :**

يزود جهاز الكروماتوجرافى الغازى باسطوانات الغاز الخامل ويتوقف نوعها على الكشافات الموجودة فى الجهاز ومن اهم الغازات الهيليوم والنيتروجين والايدروجين ويتم التحكم فى معدل سريان الغازات من خلال منظم الضغط . يجب التنبيه بضرورة استخدام غازات على درجة عالية من النقاوة ومن اهم الشوائب التى تحتويها الغازات الحاملة الماء والنيتروجين والايدروكربونات وثانى اكسيد الكربون ، وتقول ان وجود شوائب مثل الماء والاكسجين يؤثر على الوسط الثابت او المتحرك او كليهما ويغير من وقت الاحتجاز Rt وحساسية الكشاف خاصة صائد الالكترونات ECD . ويمكن تنقية هذه الغازات بطرق سهلة وميسرة أو استخدام مناخل جزيئية لا تسمح بمرور الشوائب واذا حدث خلل فى الكشاف او المسجل يجرى تسخين على درجة حرارة ٣٠٠ م لمدة ٨ ساعات ولعدة ايام متتالية حتى يعود الكشاف والمسجل لكفاءتهما العادية . يمتاز الهيليوم بالأمان عن النيتروجين وان كان النيتروجين يفضل فى اجهزة التنقيط الالكترونى Micro coulometer بشرط خلوه من الاكسجين منعا لتذبذب الاستجابة . ويستخدم الارجون فى بعض الاجهزة التى بها كاشف التأين واللهب .

تزود هذه المجموعة بمنظم ذو مرحلتين للتحكم فى الضغط بما يتوافق مع الفصل والحساسية المطلوبة وكذلك المرشح يوضع بين منظم الضغط والجهاز للتخلص من الشوائب خاصة مع صائد

الالكترونات ويجب تغييره اذا حدث تلوث من الغاز الغير نقى ويستدل على ذلك من حدوث انحدار سريع لخلفية التيار الكشاف ECD وهناك جهاز ضبط الانسياب وهو يوجد قبل العمود ويجب معايرته كلما تطلب الامر ذلك وهناك مقياس انسياب الفقاعات حيث يستخدم لقياس تدفق الغاز عند نقطة خروج الغاز من فتحة العمود ويمكن معايرته بتوصيل حمام خروج الغاز بسحاحة مملوءة بمحلول الصابون ويقدر معدل إنسياب او تدفق الغاز يتوقف ارتفاع الفقاقيع فى السحاحة بوحدة الثانية ويستخدم ذلك التكنيك كذلك فى تعاقب من توصيلات وحدة سريان الغاز .

ثانيا : وحدة الحقن :

تكون المبيدات فى صورة سائلة أو مجهزة فى مذيب عضوى ويتم الحقن فى جهاز الكروماتوجرافى الغازى خلال صمام الحقن المكون من طبقة مزدوجة من المطاط او بعض اللدائن الاخرى ويقفل ذاتيا بعد الحقن ويتم حقن العينة باستعمال حقنة دقيقة ميكرومترية ويتم تهيئة مكان الحقن بالتسخين فى فرن مفرغ على درجة حرارة ٢٠٠م لعدة ساعات حتى لا يحدث نزيف للصمام كما يمكن الاحتفاظ به فى مبرد الصمام بالتناوب على درجات حرارة منخفضة واذا حدث تلوث فى وحدة الحقن وجب تغيير الصمام المطاط والصوف الزجاجي ومادة التعبئة القريبة منه حتى لا يحدث فشل فى كفاءة الكشاف والكروماتوجرام .

يجب الا يكون حجم العينة المحقونة كافيا لدرجة تسمح بتشبيع مسطح العمود بدرجة تكفى للحصول على منحنيات واضحة تحت ظروف التشغيل وكل هذا يحتاج لمعايرة دقيقة وهناك انواع مختلفة من الحقن ذات الحجم الدقيق تنتج بواسطة شركات بكمان وهاملتون ولسنا فى مجال التأمين على ضرورة غسل الحقن جيدا بواسطة البنزين او الاثير واذا حدث عطل فى حركة مكبس الحقن يغسل بمحلول غسيل من ٤٠ ملليلتر حامض كروميك + ٠,٦ حامض كبريتيك مركز فى ١٠٠ ملليلتر ثم يغسل بالماء البارد والمقطر وهكذا .

يجب حقن العينة فى الجهاز على صورة مركزة للحصـــول على منحنى مثالى (ضيق ومتماثل) والحجم المناسب يتراوح من ٢ - ٢٥ ميكروليتر فى اجهزة GC العادية بينما يقل عن ذلك ١ - ١٠ ميكروليتر فى اجهزة التنقيط وكل هذا يتحدد من خلال المعايرة والتجارب الاولية وظروف التشغيل والاجتهاد مطلوب ولكن بحساب ويجب التأكد من عدم حدوث اى خلل فى وحدات الحقن من جراء ارتفاع الحرارة الى ٣٠٠م لان استعمال المطاط غير مناسب يؤدى الى ظهور مشاكل خطيرة وبعض الاجهزة تزود بوحدات تبريد مائية لمنع تأثير درجة الحرارة العالية على المبيدات محل الكشف عنها .

ثالثا : الاعمدة والفرن :

١ - مواصفات العمود المناسب :

يجب تجنب استخدام الاعمدة المعدنية لأنها قد تسبب تحلل بعض المبيدات بسب التفاعل مع مادة العمود نفسه على درجات الحرارة المرتفعة لذلك يفضل ويشيع استخدام الاعمدة ذو الانابيب

الزجاجية المصنوعة من البروسليكات او الالمونيوم او النحاس او التفلون او الصلب الذى لا يصدأ .
يعتبر اختيار اعمدة الفصل من أهم العوامل المسئولة عن نجاح طريقة الكروماتوجرافى الغازى لتقدير المبيدات ونواتج تمثيلها . تصنع الاعمدة فى اشكال مختلفة تشمل اللفيفة والانبوب الشعرى ca-pillary أو شكل حرف U . ويتراوح طول العمود من ١ – ٥٠ بوصة بينما القطر الداخلى من القطر الشعرى الى بوصة واحدة وأكثر الأعمدة شيوعا ذات الطول من ٢ – ١٠ بوصات وقطر داخلى ١/٤ بوصة ولا توجد قاعدة عامة او توصية لتجهيز العمود من مادة معينة للفصل الكروماتوجرافى الغازى ولكن بالتجربة واختبار العديد من الاعمدة المصنوعة من مواد مختلفة يمكن اختيار افضلها بما يتلاءم مع المبيد أو المركب محل التحليل .

ولسنا فى حاجة للقول ان الاعمدة القصيرة اقل كفاءة بسب انخفاض درجة الثبات المطلوبة للتحليل المتعدد ، كما ان صغر القطر الداخلى للعمود يزيد من فاعليته بشرط عدم التحميل الزائد للعمود عن طريق حقن عينة اكبر حجما من درجة تحمله ومرة اخرى نقول المعايرة هى الاساس والحكم . توضع الاعمدة داخل فرن معدنى مزدوج الجدار به مروحة لتوزيع درجة الحرارة باستمرار ومنظم لدرجة الحرارة وبوجه عام فان درجة حرارة المحقن تزيد عن درجة حرارة العمود بمقدار من ٢٠ – ٥٠ م .

٢ – العوامل المحددة لكفاءة العمود :

من اهم العوامل المحددة لكفاءة العمود الدعامات الصلبة أو المادة المالئة للعمود وهى من الدياتومات البحرية أو الطين التى تعامل معاملات خاصة فى منتهى الدقة حيث تجرى عليها عمليات تكلس ثم تغسل بالحامض او القلوى وتعامل بالسلينات ثم تنخل ويفضل ان تكون احجام الحبيبات متجانسة فى حدود ٣٠ – ٦٠ مش حيث تتميز بحرية الإنسياب والتعبئة المتجانسة ومقاومة الضغط ويشترط فى المادة المدعمة :

١ – ان تكون ذات احجام دقيقة .

٢ – خاملة ليس بها مواقع نشطة .

٣ – ذات مساحة سطح اكبر بالنسبة لوحدة الحجم لزيادة الكفاءة .

٤ – تتميز بالثبات العالى ضد الحرارة والعوامل الميكانيكية .

يجب الحصول على هذه المواد من مصادر موثوق فيها والتأكد من عدم تلوثها خاصة بشوائب الالومنيوم والحديد وغيرها التى تحلل وتكسر المبيدات وتؤدى لحدوث ظاهرة التذييل فى الكروماتوجرام .

الوسط الثابت يجب الا يتفاعل مع المواد المارة فى العمود ومن ثم وكما قلنا سابقا يكون

ثابت فى درجة الحرارة وله ضغط بخارى ولزوجة منخفضة وغالبا ما تكون نسبة الوسط السائل من ١٥-٤٠٪ من وزن المادة الصلبة . توجد الكثير من المواد التى يمكن ان تستخدم كوسط ثابت او طور سائل liquid phase أو stationary phase ومن افضل المواد مركبات السليكون بسبب قدرتها الفائقة فى فصل وتحليل المواد عالية القطبية وثباتها النسبى على درجة حرارة التشغيل المرتفعة .

٣ - تجهيز العمود :

يتطلب تجهيز العمود غسله من الخارج والداخل بالماء والصابون ثم الاسيتون والهكسان ثم يجفف جيدا ويملأ بمادة التعبئة وهى المادة الصلبة المدعمة الخاملة والمغلفة بالطور الثابت بنسب معينة وتتاثر كفاءة عملية الفصل بالنسبة بين الطور الثابت والمادة المدعمة .

من اهم طرق تحميل وتغليف المواد الصلبة المدعمة للطور الثابت : (١) طريقة الكأس الزجاجية Beaker Technique وفيها تتم اذابة الطور الثابت فى مذيب عضوى مناسب فى كأس زجاجى ويضاف اليه المادة المدعمة ويقلب المخلوط جيدا ثم يبخر المذيب باستعمال تيار من الهواء أو النتروجين مع التقليب المستمر اثناء التبخير وهذا التقليب قد يسبب مشكلة من جراء تحطيم او تفتيت جزيئات المادة المدعمة ، (٢) طريقة التبخير الدورانى بالتفريغ Rotary vaccum حيث يوضع الدورق المحتوى على مخلوط المادة المدعمة والوسط الثابت فى حمام مائى ويوصل بوحدة المبخر الدوار ، (٣) طريقة الغسيل Fluidization حيث تنقل العجينة السائلة الى اسطوانة التسييل وتجفف العينة بالنتروجين والتسخين .

يجب على الباحث ان يتعلم كيف يجهز المواد المالئة للعمود وكيف يملأ العمود كذلك ولا غضاضة او حرج فى التدريب على ذلك فقد تدربت شخصيا وانا فى درجة الاستاذية على هذه الطريقة فى معامل شركة سوميتوموكيميكل فى اليابان ولم اجد اية صعوبات بعد ذلك عندما طبقت ما تعلمته فى معملى بكلية الزراعة .

٤ - تهيئة العمود :

(أ) يتم تثبيت العمود من ناحية فتحة الدخول inlet بغرفة الحقن ويترك حرا بلا اتصال من ناحية الخروج out let لمنع تسرب السائل المستنزف من العمود خلال التهيئة على الكشاف وبمرور الغاز الحامل خلال العمود وترفع درجة الحرارة لأكثر بمقدار ٤٠ - ٥٠ م عن درجة التشغيل بشرط الا تزيد عن الدرجة التى تتحملها مادة التعبئة لمدة ٧٢ ساعة وتختلف مدة التهيئة تبعا لنوع الطور الثابت .

(ب) هناك التهيئة بالسلينات حيث يتم التخلص من المواد النشطة الموجودة فى مواد التعبئة وعلى الجدار الداخلى للعمود ويستخدم مركب Silyl-8 والمعاملة هذه ضرورية لتجنب ادمصاص

المبيد على المواضع النشطة خاصة مع اعمدة الالومنيوم . تبدأ المعاملة بالسيلينات بعد نهاية فترة التسخين حيث تضبط درجة الحرارة على درجة حرارة التشغيل العادية ثم تحقن مادة السيليل – ٨ فى صورة محلول بحجم قدره ٢٥ ميكروليتر ويكرر الحقن ٤ مرات بنفس الحجم بين كل مرة والاخرى فاصل زمنى ٣٠ دقيقة وبعد ساعتان يتم توصيل العمود بالكشاف من ناحية الخروج .

(حـ) هناك التهيئة عن طريق ترسيب ابخرة الكربواكس وهذه طريقة شائعة مع المبيدات الفوسفورية لتقليل او تفادى مشكلة الادمصاص .

٥ – تقويم العمود :

يتم تقويم العمود بعد الانتهاء من تجهيزة وتهيئته بهدف التأكد من كفاءته وثباته من خلال الاعتبارات التالية :

- تقدير الفاعلية أو الاداء Efficiency بحساب عدد الطبقات النظرية Tp .

* **ملحوظة (١)** : يمكن اضافة مواد مانعة للتفاعل فى اعمدة التحليل المستخدمة فى حالة المبيدات الكلورينية مثل الابيكون واستخدم نفس المادة مع المركبات المحتوية على الكبريت والتى تتحلل على درجة الحرارة العالية ٢٥٠ – ٣٠٠ م مما يؤدى الى فقدها قبل الكشف والتقدير .

* **ملحوظة (٢)** : عدم تجانس المادة المالئة للعمود ووجود الجيوب الهوائية يعمل على اعطاء نتائج خاطئة ويصبح المنحنى غير متماثل (عريض ذو قمة منفرجة) . لذلك يمكن ملء العمود بواسطة جهاز يعمل بذبذبات معينة وعمل معايرة بعد ذلك لأن الذبذبات قد تفصل الحبيبات بعضها عن بعض بعد ملء العمود واخد الاحتياطات اللازمة يجب ان يغطى العمود بقطعة من الصوف الزجاجى لحفظه .

رابعا : خطوات التشغيل والحقن :

عند بداية التشغيل يجب اعداد المسجل فى وضع بداية التشغيل على وضع الصفر Zero ووضع مقياس فرق الجهد عند البداية وابطال تيار الخلفية وهنا يصبح الجهاز معد للتشغيل وعندئذ يتم الحقن بالطريقة التى تلائم الطريقة والغرض من التحليل . هناك ثلاثة طرق اكتفى بذكر اسمها فقط وعلى القائم بالتحليل ان يتدرب على نوعية الجهاز الموجود فى معمله من قبل المختص وهى طريقة السحب المزدوج وتدفق المذيب والسحب الفردى للخلف . وليكن معلوما ان هناك احتمال لحدوث خطأ كبير فى عملية الحقن تكون مسئولة عن الحصول على نتائج مضللة للغاية لذلك وجب التدريب كلما كانت هناك فرصة واسترجاع المعلومات الاولية عن كيفية اخذ الحجوم المناسبة فى الكيمياء التحليلية .

خامسا : الكشافات Detectors :

تعتبر الوسيلة التى تتولى التعرف وقياس والكشف عن المكونات الموجودة فى العينة المحقونة

والتى يحملها تيار الغاز معه من عمود التجزئة ويجب ان تتسم هذه الوحدات اى الكشافات بالبساطة والحساسية العالية والثبات الكافى والاستجابة السريعة لأية تغيرات . وتعتمد وحدات الكشف على الخواص الطبيعية للمركبات مثل الحجم الجزيئى والكثافة النوعية والاختصاص فى مدى الاشعة IR و uv والتوصيل الكهربى والحرارى ... وغيرها ، وفى بعض الاجهزة توصل بها وحدة تحليل طيفى مستقل لتحديد والكشف عن النواتج المنفصلة بالتوزيع الجزيئى وفى اجهزة اخرى توصل بها وحدة تنقيط كهربى تعتمد فى عملها على قياس فرق الجهد الكهربى وقد استحدثت اجهزة كروماتوجرافى الغاز ملحق بها وحدات للتقدير عن طريق طيف اللهب وقد استخدمت فى مجال تحليل المبيدات المحتوية على هالوجين والسيانيد .

يوجد حتى الآن ما لا يقل عن ٣٠ - ٤٠ نوع من الكاشفات وفيما يلى سرد مختصر لأهم الكاشفات ، مع ضرورة الاحاطة بان التفضيل بين الكاشفات المختلفة يعتمد على الاختلاف فى التذبذب noise والحساسية sensitivity والخطية llinearity والتخصص specificity ووقت الاستجابة response time .

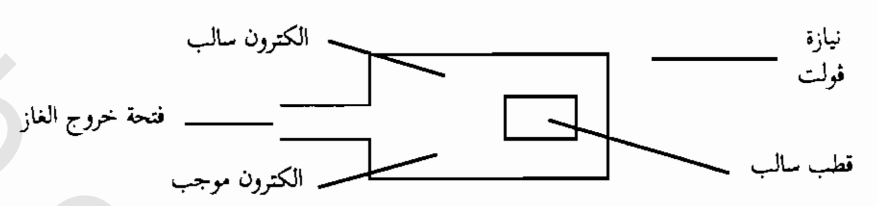
١ - كشاف التوصيل الحرارى (TCD) Thermal conductivity detector :

تستعمل خلية حرارية يطلق عليها كاشاروميتر والجزء الحساس عبارة عن سلك معدنى واغلب ابخرة المواد العضوية ذات درجة توصيل حرارى اقل من الايدروجين والهيليوم والنيتروجين ووجود الابخرة فى الغازات الخاملة يقلل من الحرارة الخارجة من السلك . وهذه الطريقة حساسة جدا لسريان الغاز وقد صادفتنى صعوبات كبيرة عند تقدير المبيدات بهذه الطريقة بسبب صعوبة التحكم فى ضغط الغاز وهذه الطريقة او الكشاف غير متخصص لأنه يحس ويتأثر بعديد من المركبات ويفضل استخدام الهيليوم مع هذا الكشاف لأنه يمتاز بدرجة توصيل عالية للحرارة وحساسية تختلف مع المركبات .

٢ - كشاف التأين باللهب (FID) Flame ionization detector :

يمتاز بسهولة التشغيل والثبات وهو غير متخصص لأنه يستجيب للعديد من المركبات الكيميائية وغير حساس للمركبات الهالوجينية وهو يفيد جدا فى معامل مستحضرات المبيدات Formulation عن الكشف عن المركبات وتقدير نسبة المادة النوعية فيما يعرف quality control يستخدم فيها خليط من الايدروجين والنيتروجين وفيها يحترق الايدروجين فى الهواء عند فتحة اللهب حيث تتجمع الايونات السالبة التى تتكون باحتراق المركبات الخارجة من العمود مع الغاز الخامل بسبب الفرق فى الجهد بين الانود والكاثود (الذى ينشأ عن الفولت المستعمل) ويؤدى ذلك الى زيادة الاشارة الموجبة التى تغذى جهاز قياس فرق الجهد الكهربى « اليكتروميتر » وهذا الكشاف لا يحس بغاز ثانى اكسيد الكربون او اكسيد النيتروجين ، ويفضل استخدام مرشح لمنع الاتربة من الوصول اليه . واعتقد ان اى مبتدئ فى استخدام الكروماتوجرافى الغازى عليه ان

يتدرب اولا على هذا الكشاف . يعطى هذا الكشاف استجابة خطية تقريبا تتناسب مع زيادة عدد ذرات الكربون فى المركبات العضوية وتتأثر مدى الاستجابة الخطية بالتغير فى المكونات الغازية للهب وحساسية وتركيب المجمع . تقل حساسية الكشاف بزيادة روابط الكربون مع الذرات المختلفة مثل السيانيد او اول اكسيد الكربون أو تقدر حساسيته بالجزء فى المليون او الميكروجرام . وتتوقف حساسية الكاشف على معدل انسياب الغاز وكذلك قوة الفولت وحالة مجموعة اللهب .



٣ - كشاف صائد الالكترونات Electro capture detector (ECD) :

يسمى كشاف الترثيوم H_3 او النيكل Ni^{63} واساس عملها هو الاختلاف بين المركبات العضوية فى ميلها لأخذ الالكترونات بسبب وجود المجاميع النشطة الموجودة فى الجزئ وخاصة المجموعة التى تحتوى على الكربون - الايدروجين ومن اهم المجاميع التى تتأثر بالالكترونات الكيتون والنيترو والهالوجينات . يمر تيار الغاز الخامل « النتروجين » على مصدر له نشاط اشعاعى والطاقة المنطلقة لجزيئات بيتا يؤدى لتحمل جزئ النيتروجين بالالكترون وتنجذب الالكترونات إلى الآنود نتيجة حدوث فرق فى الجهد بين الانود والكاثود وبذلك تكتمل الدائرة بين القطب السالب والموجب . وعلى هذا يقوم النتروجين بحمل الالكترونات او موصل للتيار ومن ثم ينتج عن الالكترونات المنبعثة اشارة تحلل كخلفية للتيار وتزداد شدة التيار بزيادة اللاالكترونات داخل الغرفة عند دخول المركبات ذات الالكترون السالب مع الغاز الحامل الى غرفة الكشاف تقوم بالتقاط الالكترونات مكونة ايونات سالبة ومن ثم تقل فرصة وجود الكترونات حرة لتوصيل التيار الكهربى فيحدث اختزال للتيار بوضوح ويسجله الالكتروميتر .

نقص التيار لا يتوقف على تركيز المادة فقط بل ايضا على قدرتها على التقاط الالكترونات . هذا الكشاف غير متخصص ويتصف بالحساسية الكبيرة لتركيزات صغيرة حتى واحد جزء فى البليون ppb ، وتزداد الحساسية مع المركبات التى بها مجموعات سالبة . يلاحظ ان استجابة الكشاف غير خطية مع المركبات العضوية المحتوية على مجموعات سالبة .

هذا الكشاف شديد الحساسية للمركبات الهالوجينية والنترات ومجموعات الكربونيل المتبادلة مع روابط زوجية الا انه غير حساس للكحولات والمركبات الاليفاتية . تتأثر حساسية هذا الكشاف بقوة الفولت وقوة المصدر المشع ومعدل انسياب الغاز الحامل ونقاوة الغاز الحامل .

* **ملحـوظة** : اساس العمل ان ابخرة المركبات المقدرة مع الغاز الحامل تقبض بعض الالكترونات لتكون مركبات عليها شحنة سالبة .

٤ – كشاف التنقيط الآلى الدقيق Micro coulometer detector (MCD) :

فى عام ١٩٦٠ تم تصميم خلية للتنقيط الالى توصل بجهاز الكروماتوجرافى الغازى مع وجود وحدة احتراق تحول المركبات العضوية الى مكوناتها الغير عضوية والتى تصل الى الخلية الكهربية لتنقيطها وهو يفيد فى تقدير الهالوجينات . ما عدا مركبات الفلور وحساسيته فى حدود واحد جزء فى المليون الى جزء فى المليون . يفيد كذلك فى تقدير المركبات المحتوية على الكبريت . يحتاج هذا الكاشف الى تدريب كافى للمبتدئ فى العمل باجهزة الكروماتوجرافى الغازى .

٥ – كشاف اللهب الضوئى Flame photometric detector (FPD) :

يستخدم فى الكشف عن المبيدات الفوسفورية العضوية فى حدود حساسية عالية جدا « نانوجرام » واساس الطريقة انه عند احتراق الايدروجين فى وجود الاكسجين والهواء ينتج لهب مختزل ، وعندما تحترق العناصر فى هذا اللهب يؤدى الى اثارة الالكترونات وم ثم تصبح فى حالة هياج غير طبيعى وعندما تخرج بعيدا عن اللهب تعود الى حالتها الطبيعية مصدرة طاقة فى صورة ضوء له طول موجى معين وهذه الطاقة المميزة لكل مركب تتحول الى طاقة كهربية بواسطة الأنبوبة الضوئية ومن ثم تزداد الاشارة التى تغذى جهاز قياس فرق الجهد . الكاشف متخصص للفوسفور وهو يعطى علاقة خطية مع تركيز الفوسفور مع مرشح طوله ٥٢٦ ملليميكرون كما يكون اختياريا لمركبات الكبريت عند طول موجة ٣٩٤ ملليميكرون وتتأثر حساسية الكشاف بقوة الفولت ومعدل انسياب الغاز وحالة الانبوبة الضوئية وحالة الكشاف الذى يجب تنظيفه كل ٦ شهور .

٦ – كشاف التأين باللهب القاعدى

Alkals flame ionization detector (AFID) :

يصلح بكفاءة مع المبيدات الفوسفورية العضوية والمحتوية على ذرة نيتروجين وكذلك مركبات الكاربامات والترايازينات . هذا الكشاف يزيد من حساسية الكاشف للفوسفور الذى يتم اخماده كما سبق القول فى FID واستجابته للنتروجين والهالوجين والكبريت تكون تقريبا على نفس المستوى لاستجابته لمركبات الفوسفور واساس العمل هو احتراق احد الاملاح القاعدية فى لهب الايدروجين البارد ، ومن ثم تتأين وتنجذب بشدة للالكترونات وتتوقف حساسية الجهاز على نوع القلوى أو القاعدة ومعدل انسياب الغاز . وكلما كان امداد اللهب بتركيزات ثابتة من القلوى زادت الحساسية .

سادسا : المكونات الالكترونية الاساسية :

سأقوم بذكر هذه المكونات بالاسم فقط مع التنبيه الى ضرورة التأكد من سلامتها عند كل تقدير واجراء تقدير او الكشف عن عينة قياسية حيث يجب التأكد من ان اى تدريج فى اى مكان

على الصفر قبل بداية العمل .. ومنها :

١ – مقياس فرق الجهد Electrometer

٢ – ضبط درجة حرارة الفرن Temp-controller .

٣ – المسجل Recorder .

سابعا : تحضير المشتقات Derivatization :

بعض المركبات تتميز بانخفاض التطاير او الثبات الحرارى او ارتفاع القطبية او تتداخل عند الفصل الكروماتوجرافى مع مركبات اخرى كما انها قد تعطى منحنيات غير متماثلة بسبب الحساسية المنخفضة للكشاف لذلك يمكن التغلب على هذه العقبات من خلال تحويل المركب الاصلى الى احد مشتقاته الذى يتميز بالتطاير والثبات كما تختلف فترة الاحتجاز Rt عن المركب الاصلى وقد سبق الاشارة الى عملية الاشتقاق هذه ، وفى حالتنا هذه يجب ان تكون عملية الاشتقاق سريعة ولا يصاحبها اية تفاعلات جانبية أو تبديل فى المجاميع الفعالة . ومن اكثر الصعوبات فى هذا المجال مبيدات الكاربامات ومشتقات حامض الفينوكسى لأنها غير ثابتة حراريا وذات طبيعة قطبية ولا تتطاير على درجات الحرارة المنخفضة كذلك تجرى لها عمليات كيميائية مختلفة مثل الالكلة وغيرها للحصول على المشتقات المناظرة ، اما المبيدات الكلورينية لا تواجه مشكلة فى هذا الخصوص .

ثامنا : التحليل الوصفى Qualitative analysis :

يمكن تعريف العينات بعد الفصل الكروماتوجرافى الغازى من خلال مقارنة قيم فترة الاحتجاز بالقيم المنشورة فى الجداول بشرط ان يكون الفصل اجرى تحت نفس الظروف تماما وبنفس الاجهزة والجواهر الكشاف .. وهنا يقال ان المقارنة تعتمد على فترات الاحتجاز النسبى Relative RF وهناك ما يعرف بنظام مؤشرات الاحتجاز Retention index system ونشيراليها :

بالنسبة لفترة الاحتجاز Retention time أو RT يجب ان يؤخذ هذا المعيار بحذر شديد عند تعريف العينات المفصولة لأنه يتغير تبعا لظروف التشغيل وحتى لو كانت مطابقة لما هو موجود فى المراجع من جراء سريان الغاز ودرجات الحررة اثناء التشغيل لذلك يجب على الباحث الا يتمادى فى الجرأة والتعريف بناء على هذا المعيار طالما لا يملك او لا يوجد فى متناول يده المادة القياسية التى تؤكد التعريف .

قد يقوم البعض بنسب وتعريف المركبات المفصولة بالنسبة لمنحنى واضح ومحدد بناء على عينة قياسية وهذا ما يعرف بالاحتجاز النسبى Relative retention time كمثال اخذ الالدرين

كمقياس عند الكشف عن المركبات الكلورينية بالكشاف صائد الالكترونات ECD او الايثيل باراثيون مع الكشاف الحرارى واللهب FPD ويحسب الاحتجاز النسبى من المعادلة التالية :

الاحتجاز النسبى = RRP

المسافة من نقطة الحقن (مقدم المذيب وقمة المنحنى للمركب المراد قياسه)

المسافة بين نقطة الحقن وقمة منحنى المرجع

وتختصر الى RRTA للالدرين و RRTP للايثيل باراثيون . ويفيد هذا المعيار فى حالة تحديد النسبة بين مشابهات المركب الواحد (ظهور اكثر من منحنى) .

اما نظام مؤشرات او دليل الاحتجاز Retention index يعتمد على وجود علاقة خطية بين لوغاريتم فترة الاحتجاز وعدد ذرات الكربون وهى غير شائعة .

يميل القائم بالتحليل الى تعريف منحنى المركب المجهول بعد الفصل الكروماتوجرافى حتى اذا وجدت او كانت العينة القياسية غير متوفرة ، وفى هذه الحالة عليه ان يقوم بحساب فترة الاحتجاز تحت ظروف التشغيل ويقارنها بفترة الاحتجاز فى الجداول المنشورة وبين موقع مبدئى عن نوع المركب ثم يحقن المركب القياسى ليتأكد من التعريف الاولى ، واذا كان هناك اختلاف يعود لتغيير ظروف الفصل بما يتمشى مع المركب القياسى .. ويمكن للباحث ان يستعين باكثرمن عمود وتؤخذ النتائج الاكثر وثوقا وتطابقا مع المركب القياسى .

تاسعا : التقدير الكمى :

قبل التقدير الكمى لا بد من معايرة الجهاز وتحديد الظروف المناسبة للفصل من جميع الاوجه حرارة وغاز والتأكد من سلامة العينات القياسية وحساسية الكشاف لحدود التركيزات الضئيلة ووضوح الاستجابة للمركب وسلامة منحنيات الكروماتوجرافى .

قبل البداية يجب عمل منحنى قياسى يمثل العلاقة بين التركيزات والاستجابة وهناك اعتقاد بان هذه العلاقة دائما خطية Linearity ولكنها تختلف من كشاف لآخر ، ويمكن رسم العلاقة بينهما على ورق لوغاريتمى او نصف لوغاريتمى .. والمعادلة التاليه تساعد فى تحديد التركيز :

تركيز المركب القياسى × استجابة العينة

تركيز العينة = ———————————————

استجابة المركب القياسى

هناك عدة طرق لحساب كميات المبيد كميا من منحنيات الكروماتوجرافى الغازى وتتوقف الطريقة حسب شكل المنحنى ومنها قياس ارتفاع المنحنى Peak height يسقط خط من مركز المنحنى الى خط الاساس ولا يصلح مع المنحنيات الصغيرة والثانية قياس المساحة Area وتجرى بطريقة رسم المثلثات ، ومساحة المثلث = ١/٢ القاعدة × الارتفاع وفى النهاية تجمع مساحات المثلثات الصغيرة التى اقيمت ، وهناك الطريقة البلانيمترية Planimetry حيث يستخدم جهاز البلانيميتر لحساب مساحة المنحنى حيث يرسم خط الاساس ويمرر البلانيميتر حول حدوده وتحدد المساحة مباشرة من قراءة الجهاز وهو يفيد فى حالة المنحنيات الغير متماثلة ... وكانت تستخدم قديما طريقة قص المنحنى ووزنه ويعيبها عدم تجانس الورق والرطوبة واحتمال عدم الدقة عند قص الورق .

معنى ذلك ان ارتفاع المنحنى والمساحة الخاصة به تتخذ كعلاقة خطية تدل على التركيز وكمية المبيد الموجودة وتتأثر هذه العلاقة بالعوامل التالى :

درجة الحرارة سرعة سريان الغاز الحامل

نوع الكشاف حجم العينة ونظافتها

عدم تحضير العمود جيدا

عدم اجراءعملية التهيئة جيدا

لكل من يعمل فى هذا المجال ويتطلع لتفصيلات كاملة عن اساسيات واستخدامات الكروماتوجرافى الغازى ان يرجع الى كتاب :

Pesticide Analytical Manual vol. 1. foods and Feeds Chapter3

ومحتويات هذا الجزء ... كما فى الصفحات التالية :

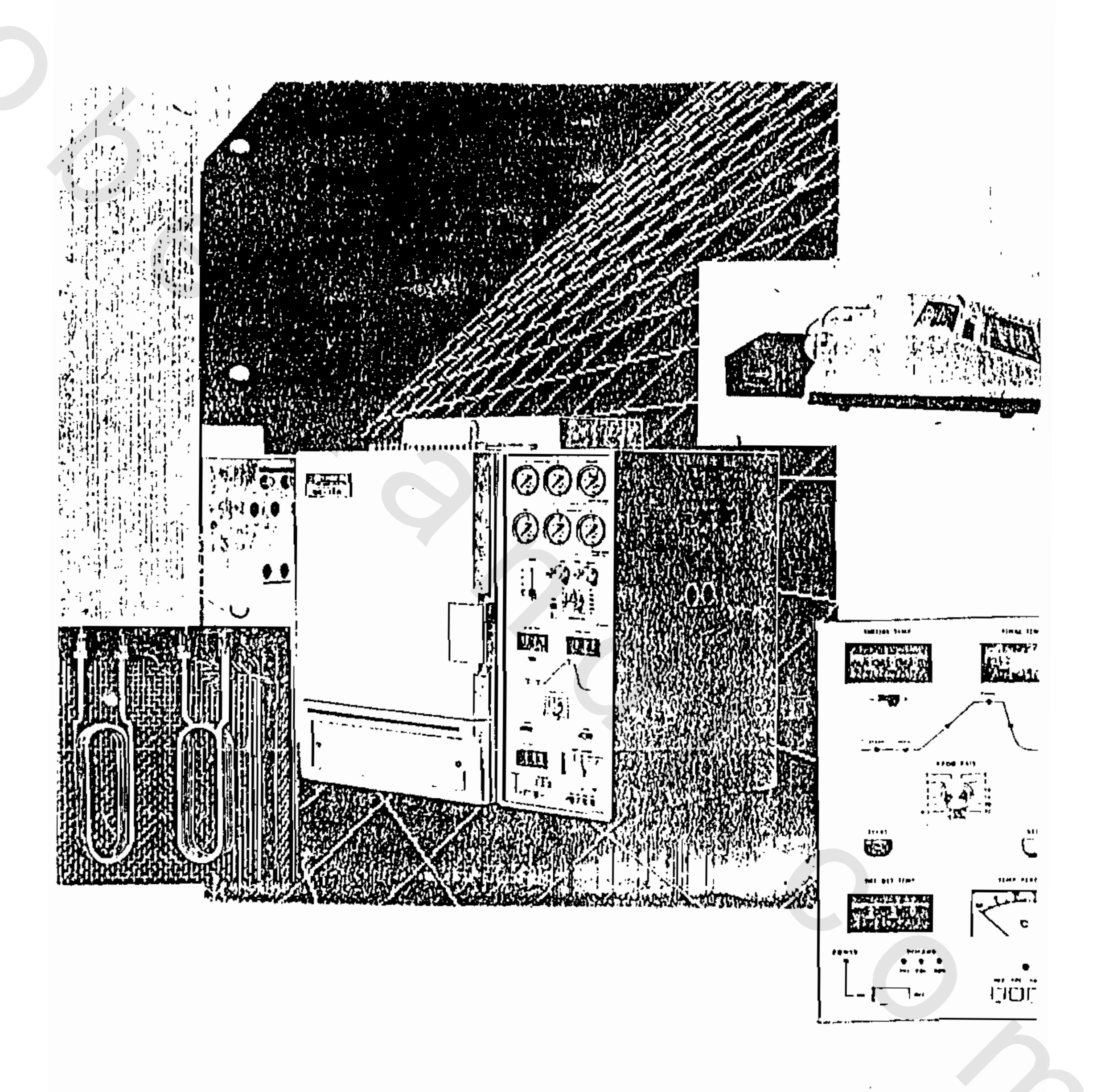
Pesticide Analytical manual - Vol. 1 Foods and Feeds — G AS-LIQID CHROMATOGRAPHY Contents

CHAPTER 3

GAS-LIQID CHROMATOGRAPHY

Contents

الصورة التالية توضح شكل جهاز الكرماتوجرافى الغازى GC اذى يوجد فى معمل بحوث تحليل المبيدات فى كلية الزراعة / جامعة عين شمس .



قائمة المراجع الخاصة بأساسيات الـ GLC

(1) Keulemans, A.I.M., Gas Chromatography, 2nd Ed, Reinhold Publishing Co., New York, 1960.

(2) Littelwood, A.B., Gas Chromatography, Academic press, Inc., New York, 1962.

(3) Dimbat, M., Porter, P.E., and Stross, F. H., Anal. Chem. 28, 296 (1956).

(4) Fredericks, E.M., and Brooks, F. R., ibid., 28 301 (1956).

(5) Dal Nogare, S., iand Juvet, R.S., Jr., Gas-Liquid Chromatography. Interscience Publishers, Inc., New York, 1962.

(6) Cremer, E., and Muller, R., Mikrochim Acta. 553 (1951).

(7) Hawkes, S. J., and Russell, C.P., J. Gas Chromatog., 3, 72 (1965).

(8) Bartlet, J.C., and Smith, D. M., Can. J. Chem., 38, 2057 (1960).

(9) Bartlet, J.C., and Smith, D. M., private communication to Food and Drug Administration, U.S. Department of Health, Education, and Welfare (1962).

(10) Iverson, J. L., private communication, Food and Drug Administration. U.S. Department of Health, Education, and Welfare (1962).

(11) Hartmann, H., and Dimick, K.P., Residue Reviews, 4, Springer Verlag New York, 1963.

(12) Cochrane, W. P., and Grrenhalgh, R., JAOAC 59 696-702 (1976).

(13) Sovocool. G. W., Lewis, R.G., Harless, R. L., Wilson, N. K., Wilson, N.K., and Zehr, R.D., Anal. Chem. 49 734-740 (1977).

(14) Lawrence, J. H., Barron, R. P., chen. J. - Y. T., Lombardo, P., and Benson, W. R., JAOAC 53, 261 (1970).

(15) Zitko, V., Chemosphere 7 3-7 (1978).

(16) Metcalf, R. L., Organic Insecticides : Their Chemistry and Mode of Action, Interscience Publishers, Inc., New York, 1955.

(17) Lehman. A. J., Summaries of Pesticide Toxicity, Food and Drug Administration, U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Washington, D.C. 20204.

اشكال توضح كيفية اقامة ورسم حظ الاساس :

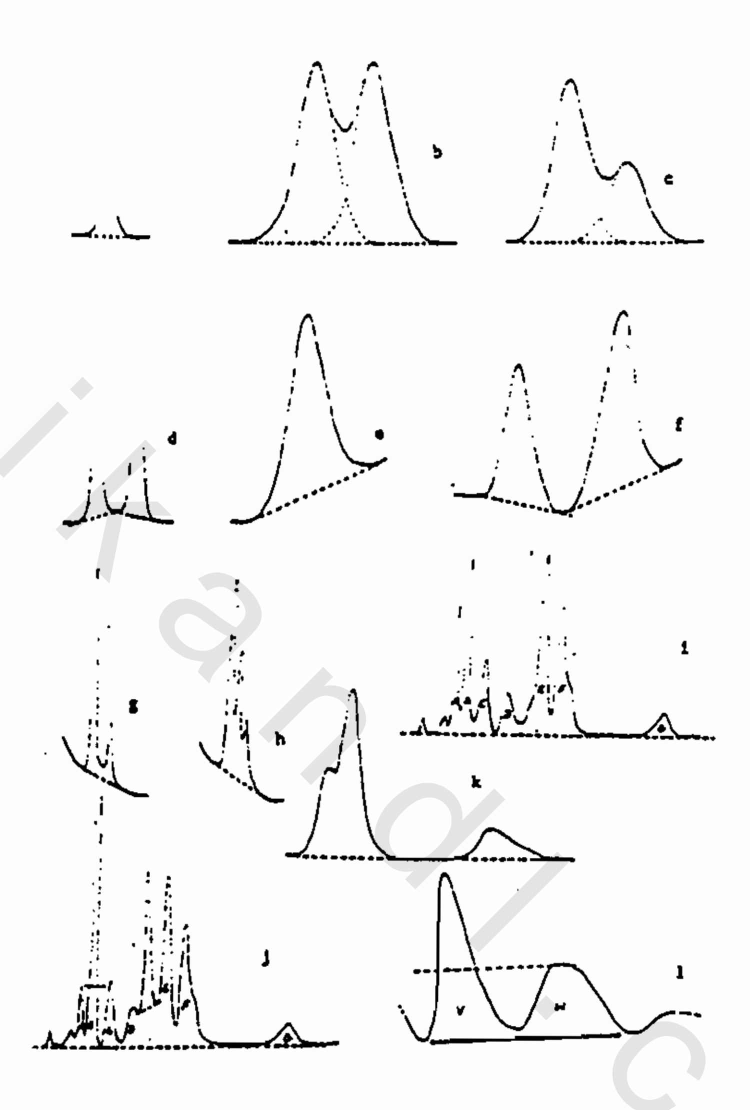


Fig. 2 - Baseline construction for some typical gas chromatographic peaks, a, symmetrical separated flat baseline; b and c, overlapping flar baseline; d, separated (pen does not return to baseline between peaks); e, separated sloping baseline' f, separated (pen goes below baseline between peaks); g, m- and y - BHC sloping baseline; h, α–, β–, and y-BHC sloping baseline; i, chloridane falt baseline; j, heptachlor and heptachlor epoxide superimposed on chlordane; k, chair-shaped peaks, unsymmetrical peak; l, p,p'-DDT superimposed on toxaphene.

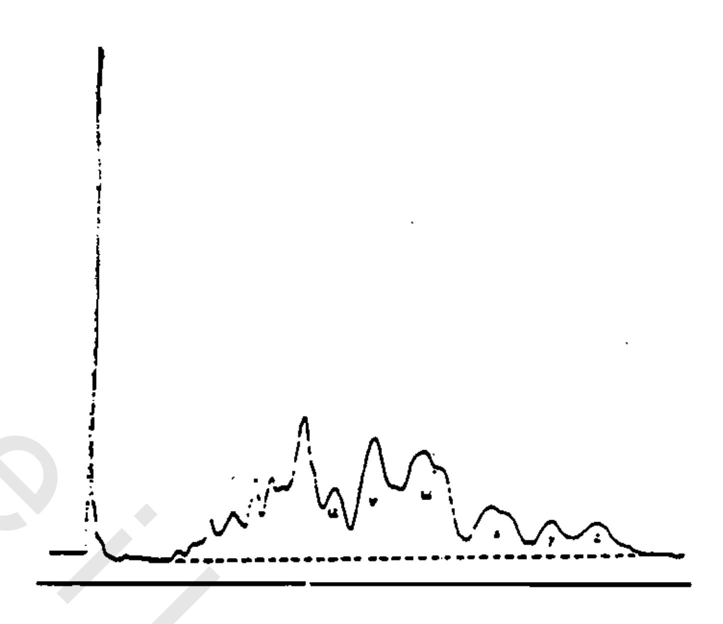


Fig. 3a - Baseline construction for multiple residues with standard toxaphene.

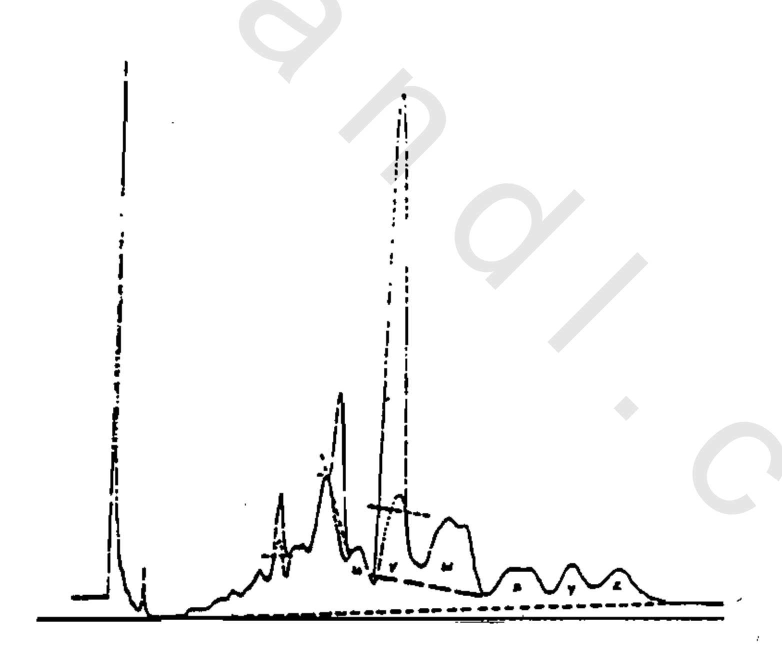


Fig. 3b - Baseline construction for multiple residues with toxaphene, DDE and o,p'-, and p,p' - DDT.

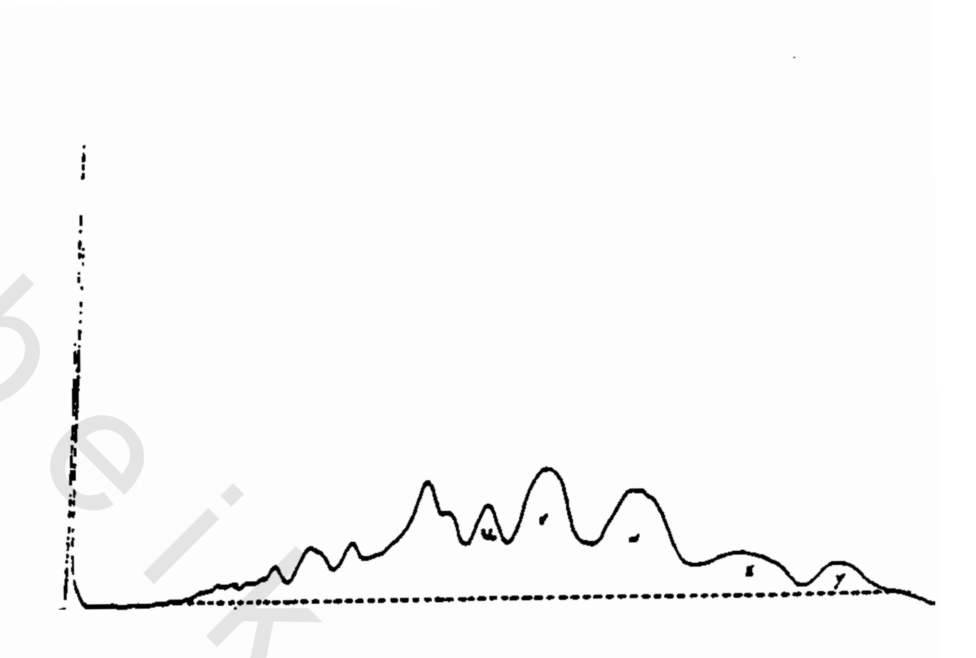


Fig. 4a - Baseline construction for multiple residues standard toxaphene.

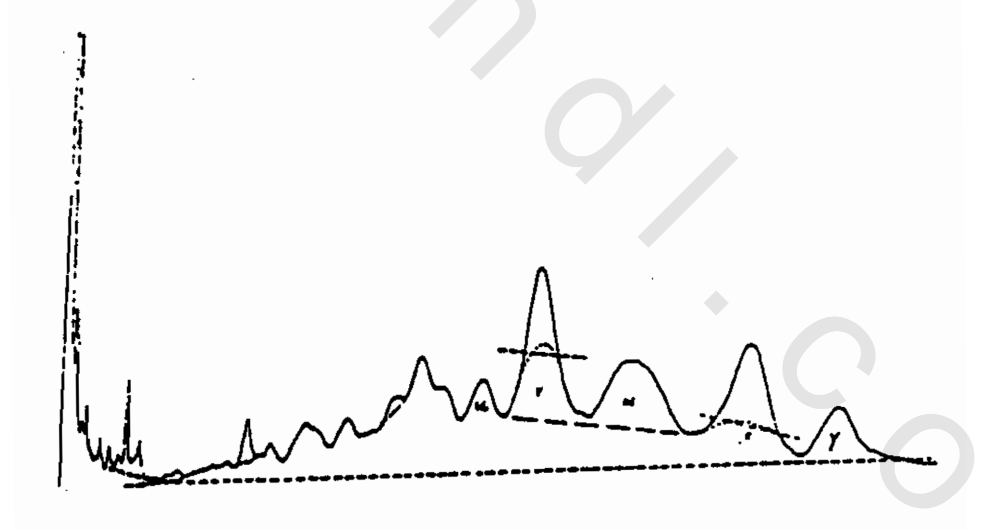
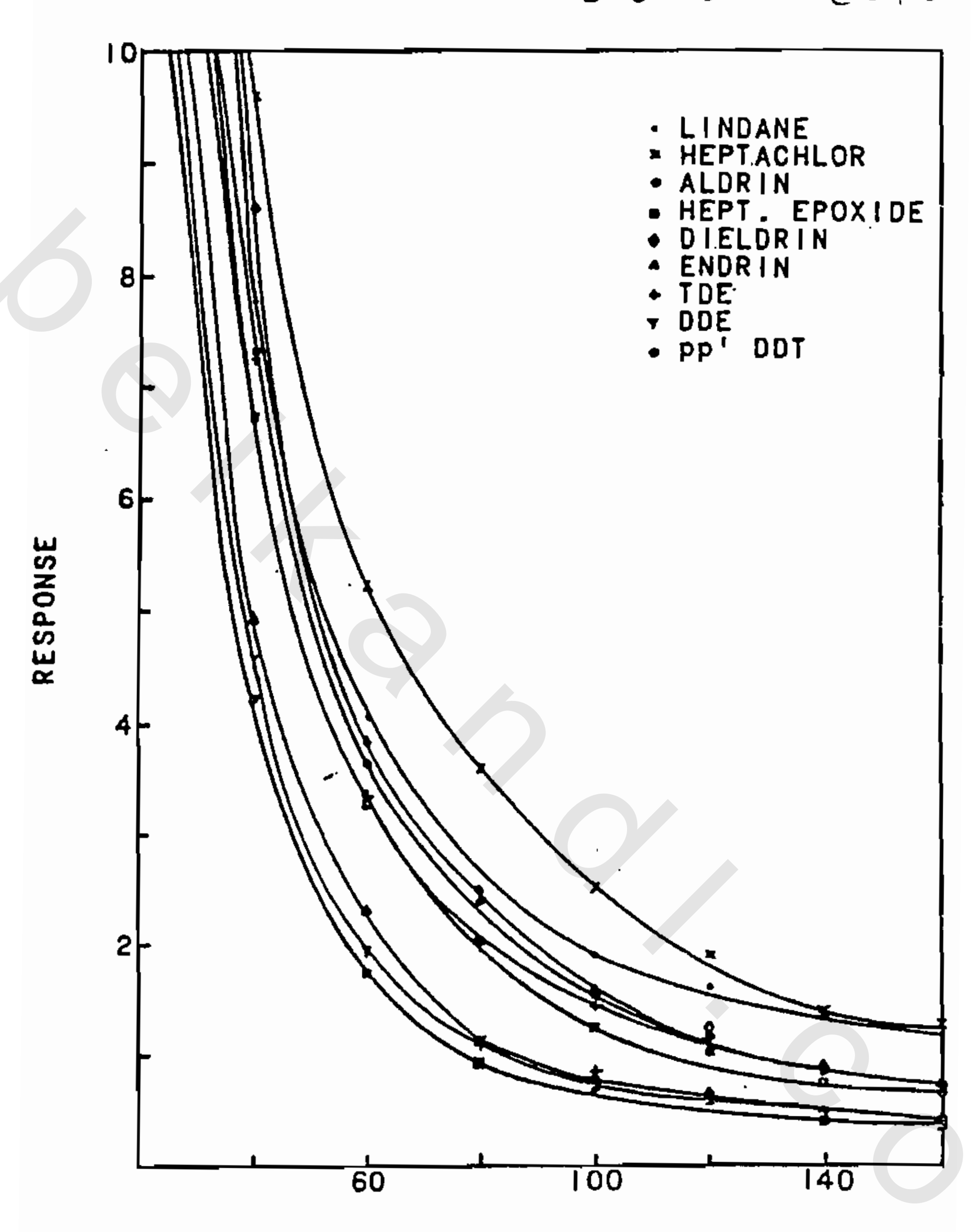


Fig. 4b - Baseline construction for multiple residues ; rice bran with BHC. toxaphene, DDT, and methoxychlor.

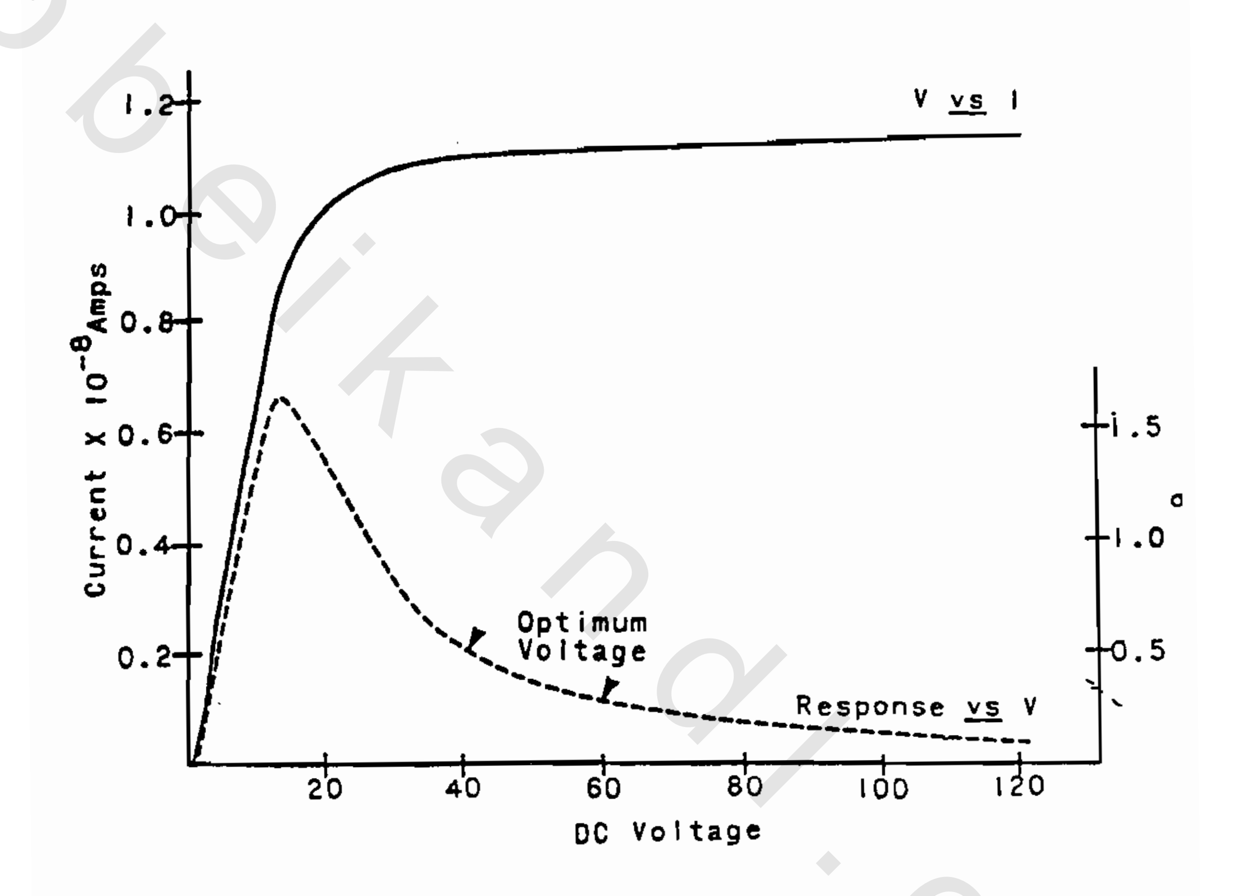
رسم يوضح انسياب الغاز الحامل على الاستجابة .



MILLILITERS NITROGEN / MINUTE

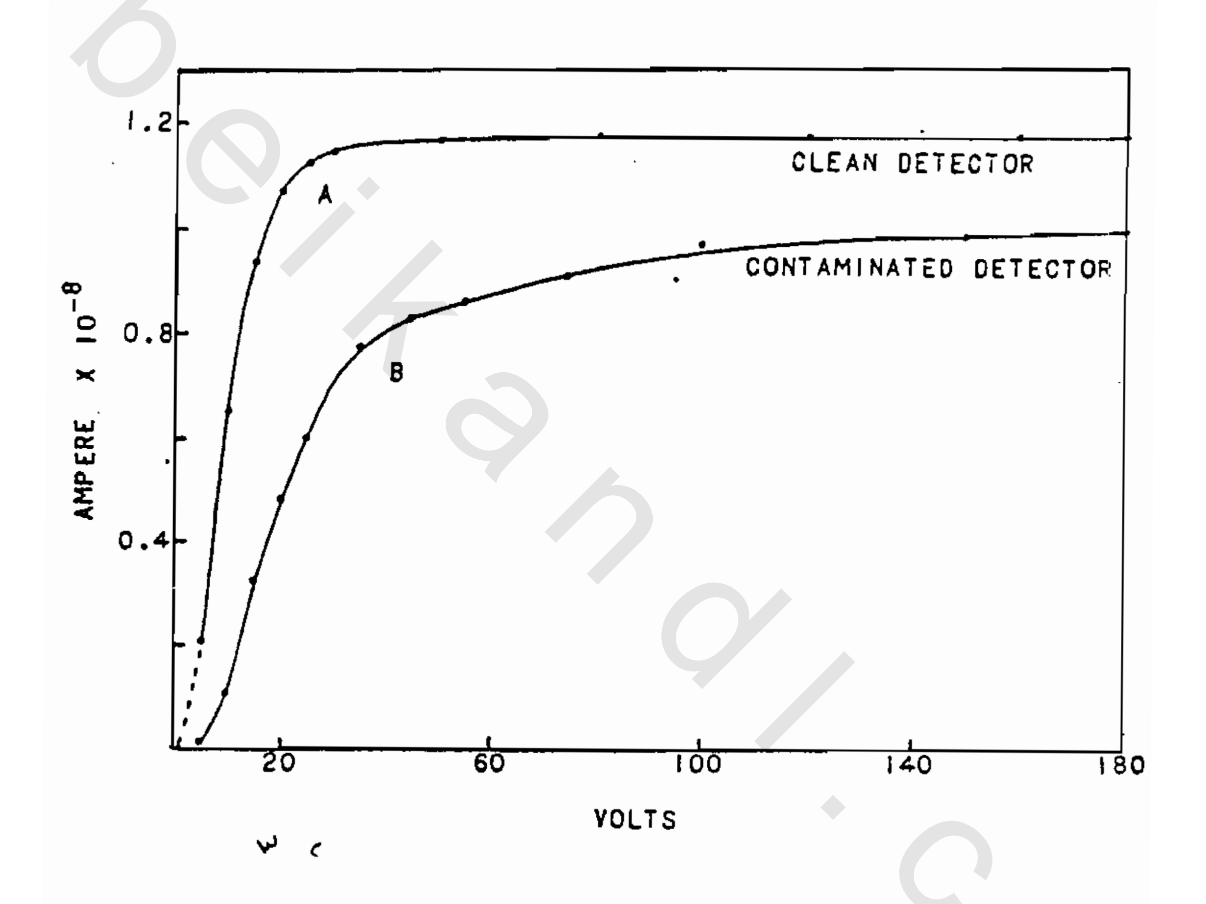
Effect of column carrier gas flow rate on response (in arbitrary units) 3H pin-cup DC voltage EC detector. From refernce (4).

تأثير الفولت على التيار الكهربى (المنحنى العلوى) واستجابة الكشاف لمبيد الهبتاكلور ايبوكسيد بتركيز ١ نانوجرام .



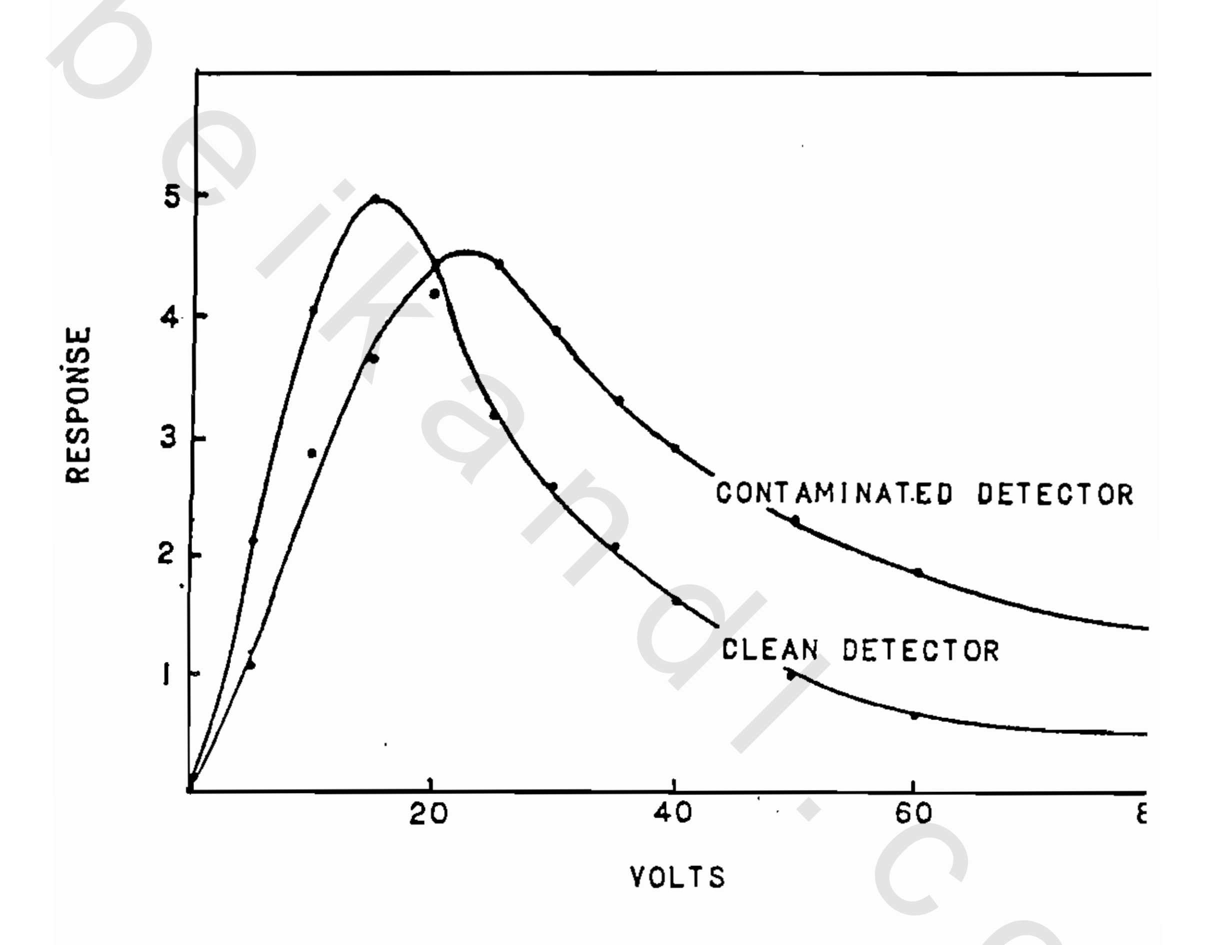
Effect of voltaglle on : 1) current (upper curve, left hand scale); and 2) detector response to 1 ng heptachlor expoxide (lower curve, right hand scale) for 3H pin-cup DC voltage EC detector. From reference (3).

تأثير تلوث الكشاف على منحنى الامبير – الفولت .



Effect of detector contamination on the voltagle-amperage lcurve of 3H pin-cut DC voltagle EC deteclt‌or; operated at 200°C, with 120 ml/min nitrogen gas flow; contamination was caused by a bleeding column. From reference (4).

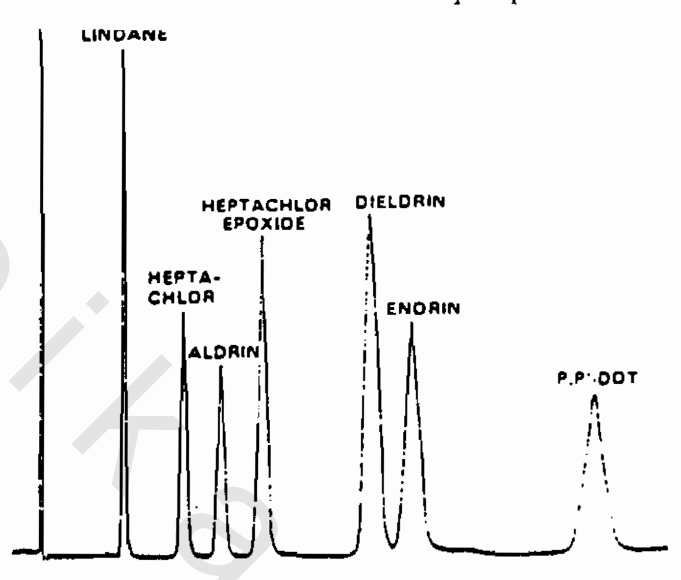
تأثير تلوث الكشاف على منحنى الفولت – الاستجابة .



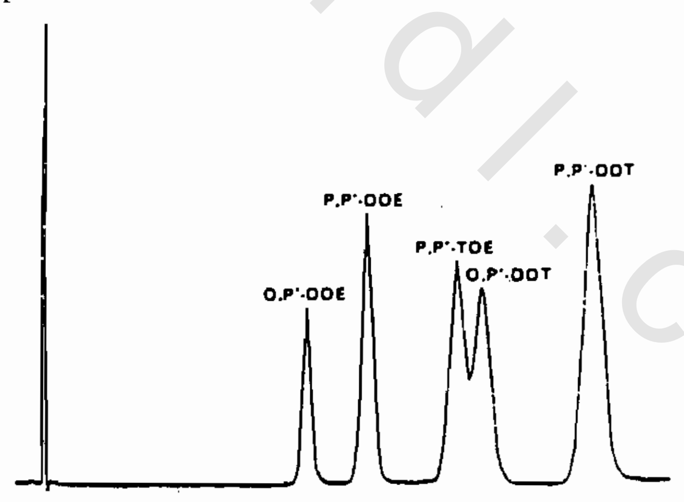
Effect of detector contamination on the voltage-response curve of 3H pin-cut DC voltage EC detector; response (in arbitrary units) is to 0.2 ng aldrin. Form reference (4).

.كروماتوجرام الفصل بين المبيدات الكلورينية .

Chromatograms from DC 200-EC GLC
GLC conditions as listed in Table 331.A. except
OV.101 is substituted for column liquid phase DC 200.



1. Chromatogram of 0.61 ng. lindane, 0.525 ng. heptachlor. 0.55 ng aldrin, 1008 ng. heptachlor epoxide, 1.645 ng. dieldnn. 1.59 ng endrin, 1.815 ng p.p. DDT.



2. Chromatogram of 1.51 ng o.p. DDE, 2.025 ng p.p. TDE. 2.1 ng. o.p. DDT. 3.18 ng. p.p. DDT.

** فيما يلى قائمة تحتوى على قيم فترات الاحتجاز النسبية Relative retention times للعديد من المبيدات منسوبة الى قيمة الاحتجاز الخاصة بالمبيد الفوسفورى كلوربيريفوس ، ولذلك يمكن لأى باحث ان يعتمد على القيم النسبية بشرط توفير المبيد القياسى للكلوربيريفوس فى معمله وبشرط ان يعمل على نفس الظروف الواردة بطرق الفصل الكروماتوجرافـــى الغازى - السائل .

Pesticide Analytica Manual-Vol. I — GAS-LIQUID CHROMATOGRAPHY

Foods and Feeds — Table 33l-A

Table 331-A. Relative Retention Times and Responses : DC 200 (or OV-101) Column-3H elecltron capture detlelctor.

Vasic References : Burke, J., and Giuffrida, L., JAOAC 417, 326-432 (1964); Armour, J., J. Chromatog. 72, 275-2828 (1972). Supplemented by continuing FDA private communications, 1967-present.

Application : General purpose. Analysis for residues of at least some compounds of all chromatographable pesticide classes which cause response by electlron capture detector.

Column : Galss; 6' x 4 mm i.d.; 10% DC 200 (12,500 ost) orl OV-101 on 80/100 mesh Chromosorb W HP. Liquid phase dissolves in chloroform for coating. Conditioned at 250°C, with N2 flow, at least 16 hours. (Lower percentage of liquid phase and lower carrier gas flow rate will produce the same relative retention times if column temperature remains the same. See 301 and 330.1 (1) for discussions of column substitutions.)

Detector : Unless otherwise noted, responses are those of concenjtric type electron capture detector; tritium source (311.3); where the response is markde "Ni", the value refers to the response of a 63Ni constant current detector (311.4).

Operating conditions :

Column temperature : 200°C, or a temperature which permits lindane to elute at 0.48 relative to chlorpyrifos and p,p'-DDt to elute at 3.09 relative to chlorpyrifos.

Injector temperature :	225°C.
Carrier gas and flow rate :	N2 at 120 ml/min (or lower flow rate for lower liquid laod; see comment above under Column.)
Detector temperature :	200°C.
Sensitivity :	DC voltage and electrometer setting at wh-i-ch 1.5 ng chlorpyrifos causes 1/2 full scale recorder deflection (FSD) : usually voltage , 100 v, sensitivity of 1 x 10-9 or 3 x 10-9 afs.
Reference compound :	Retention times reporteld relative to chlorpyrifos, which elutes in approximately 4.25 minutes from a cloumn with 10% liquid phase and 120 ml/min flow rate. Retention times measured from leading edge of solvent peak.

NOTE : The change to chlorpyrifos as the "marker" compound for relative retention times and responses is new with this revision. Use of chlorpyrifos (molecular formula CgH113No3PS) permits the same marker to be used with all detectors of interest in pesticide analysis. Most Irrt values in this table were obtained by recalculation form the existing rrt (aldrin) values.

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chloropyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
101	p-dichlorobenzene	0.03	37
79	dibromchloropropane (Nemagon)	0.04	0.6V
196	1,3,5-trichlorobenzene	0.06	2.5
195	1, 2, 4-trichlorobenzene	0.07	3
46	dichlorvos (DDVP)	0.07	6
194	1, 2, 3-trichlorobenzene	0.08	1.5
122	allidochlor (Randox)	0.09	4
48	trichlorfon	0.1	-
90	monuron	0.1	150-200

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chloropyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
41	diuron	0.11	15-30
97	neburon	0.11	15-30
172	dichlobenil (Casoron)	0.11	0.5
1123	hexachlorocyclopentadiene	0.12	0.4
121	mevinphos (Phosdrin)*	0.13	18
1087	dimethyl phthalate*	0.14	25
413	hydroxy chloroneb	0.15	5
(12)	dicamba methyl ester	0.19	2
	bis (trichloromethyl) disulfide	0.19	unknown
271	chloroneb	0.19	9
i281	methyl 2, 3, 6 - trichlorobenzoate	0.23	0.6
1250	pentachlorobenzen	0.24	0.3
	2, 3, 4, 6-tetrachloroanisole	0.24	0.7
	2, 3, 5, 6-tetrachloroanisole	0.24	unknown
144	tecnazene (TCNB)	0.29	0.5
301	propachlor (Ramrod)	0.29	7
18	chloranil	0.30	5-10
	2, 4-dichloro- 6 - nitroaniline	0.30	0.4 (Ni)
277	2, 4-D methyl ester	0.30	6
22	chloropropham (CIPC)	0.32	1000-2000
266	trifluralin*	0.34	1.2
288	benfluralin (benefin)*	0.35	0.8
160	phorate (Thimet)*	0.36	20-30
(38)	dinitro-o-cresol methyl ether*	0.36	0.4
151	sulfallate (CDED)	0.38	3
8	BHC (technical)	0.39,0.48	1-2
213	BLHC, alpha-	0.39	0.4
	2, 3, 4, 5-tetrachloroanisole	0.39	unknown
130	simazine	0.18, 0.40	200
66	dicloran (Botran)	0.41	0.5
162	dimethoate*	0.41	4.5
532	theiometon	0.41	20
6	atrazine	0.42	200

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chloropyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
219	2, 4-D isopropyl ester	0.42	10
255	BHC, beta-	0.43	1.8
124	propazine	0.18, 0.44	200
321	diazinon oxygen analog*	0.44	300
361	amiben methyl ester	0.44	0.8
80	hexachlorobenzene	0.44	0.4
276	silvex methyl ester (2, 4, 5-TP methyl ester)	0.45	0.7
280	pentachlorophenyl methyl ether	0.45	0.4
503	terbuthylazine	0.47	100
77	lindane (gamma BHC)	0.48	0.5
275	2, 4 , 5-T methyl ester	0.49	1
258	BHC, delta-	0.50	0.4
111	quintozene (PCNB)	0.51	0.3
639	pentachlorobenzonitrile	0.51	0.5 (Ni)
456	pronamide (kerb)	0.51	1.5
47	diazinon*	0.51	25
495	dinitramine*	0.52	0.6
326	chlorothalonil (Daconil 2787)	0.53	0.5
270	terbacil	0.54	10
32	dichlone	0.55	3
320	parathion=methyl oxygen analog*	0.55	11
142	tetraiodoethylene*	0.55	4
268	chlordene	0.56	0.65V
425	metribuzin (Sencor)*	0.57	1.7
309	dichlormate (Sirmate, 3, 4 isomer)	0.57	5
308	Sirmate, 2, 3 isomer	0.57	3
278	2, 4-DB methyl ester	0.62	28
222	2, 4-D isobutyl ester	0.62	5
1037	di-isobutyl phthalate*	0.63	80
	2, 3, 4, 5 - tetrachloronitroanisole	0.64	unknown

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chloropyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
	2, 3, 6-tetrachloroanisidine	0.65	1
109	propanil (Stam F-34)	0.66	4
226	2, 4, 5-T isopropyl ester	0.67	2
402	pentachloroaniline	0.67	1.2
166	dichlofenthion (Nemacide)	0.67	1.3
88	parathion-methyl*	0.69	3
	vinclozolin	0.69	1.2 (Ni)
	2.3.4. 6-tetrachloroanididine	0.69	unknown
	2,3,4, 6-tetrachloronitoroanisole	0.70	unknown
	2,4-D n-butyl ester	0.72	40
	2,3,5,6-tetrachloronitroanisole	0.72	0.6
	2,3,4,5-tetrachloroaanisidine	0.76	1
	alachlor (Lasso)	0.76	7
	picloram methyl ester	0.76	1.3
	prometryn	0.77	1000
	parathion oxygen analog*	0.78	5-10
	ronnel (fenchlorphos)	0.80	1
	heptachlor	0.81	0.7
	0,p' -dichlorobenzophenone (a)	0.82	4
	o.p' -dicofol (o, p' -kelthane) (a)	0.82, 4.1	100
	- chlordene (from tech. chlordane)	0.82	2
	chlordene epoxide	0.48	0.6 (Ni)
	linuron	0.85	28V
	pirimiphos-methyl	0.85	100 (Ni)
36	di-n-butyl phthalate*	0.87	85
83	malathion*	0.89	20-30
	dichlofluanid	0.89	2.2 (Ni)
63	cylanazine (Bladex)	0.89	10
316	Zytron	0.90	3
	pentachlorophenyl methyl sulfide	0.92	0.6

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chloropyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
269	bromacil*	0.92	20
	2,4,5-T isobutyl ester	0.94	1
473	-chlordene (from tech. chlordane)	0.96	1.5
42	chlorfenethol (Dimite)	0.80, 0.97	15-20
472	-chlordene (from tech. dchlordane)	0.98	1-105
423	1-hydroxychlordene	0.99	1.3
389	p.p' -dichlorobenzophenone (a)	0.99	3
69	p,p' -dicofol (p,p' -kelthane) (a)	0.99 , 4.4	20
110	parathion*	1.00	1.4
184	dicapthon (phosnichlor)	1.00	1.7
56	DCPA (Dacthal)	1.01	1.2
2	aldrin	1.02	0.8
(345)	Dacthal monoacid	1.05	0.7
282	4- (2, 4, 5-TB) methyl ester	1.07	1.5
16	chlorthion	07	60-70
	2, 4, 5-T n-butyl ester	1.10	1
429	bromophos	1.11	1.3
296	cypromic	1.12	6
149	isobenzan (Telodrin)	1.12	1
515	pirimiphos-ethyl	1.12	142
467	isopropalin	1.14	1.6
94	isodrin	1.17	1
458	chlorfenvinphos	1.17	3.5
	pea auxin (natural product)	1.17	200 (Ni)
207	o,p' - TDE olefin	1.19	12
17	captan	1.19	1.5
44	danilazine (Dyrene)	1.23	7V
119	folpet (Phaltan)	1.23	3
	olylfluanid	1.26	3.3 (Ni)
530	phenthoate	1.26	5
134	sulphenone	1.27	4

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chloropyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
459	- chlorfenvinphos	1.27	2.5
63	heptachlor epoxide	1.27	1
407	octachlor epoxide (oxychlordane)	1.29	1
	dihydrokepone	1.34	unknown
19	chlorbenside	1.39	2
	photodieldrin 8 (b)	1.43	2
	amino-nitrofen	1.44	60
153	p,p' -TDE olefin	1.45	7
209	trans chlordane (alpha)	1.46	1
493	perthane olefin	1.50	40
186	Genite 923	1.50	2
204	o,p' -DDE	1.51	2
233	2, 4-D propylene glycol butyl ether ester	1.54	20
348	tetrachlorvinphos (Gardona)	1.54	3
448	Methyl Trithion oxygen analog	1.55	9.5
294	p.p'-DDA methyl ester	1.60	180
139	endosulfan (Thiodan)	1.61, 2.12	1-2
235	endosulfan I (Thiodan I)	1.61	1-5
104	ovex (chlorfenson)	1.61	3
210	cis chlordane (beta)	1.63	1
330	trans nonachlor	1.70	2
234	2, 4-D butoxy ethyl ester	1.82	12
28	p,p' -DDE	1.85	1.5
34	dieldrin	1.87	1.5
223	2, 4-D isooctyl ester (technical)	1.74, 1.88, 2.13	50
61	DEF*	1.89	4
205	o, p' -TDE	1.90	2
	monohydrokepone	1.94	unknown
(39)	dinex (DNOCHP) methyl ether*	1.94	2.5
511	oxadiazon	1.97	11

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chloropyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
198	nitrofen (TOK)	2.03	2
50	endrin	2.09	2
224	2, 4-D ethyl hexyl ester	2.11	8
236	endosulfan II (Thiodan II)	2.12	2
5	Aramite	2.00, 2.14	10.000
95	Methyl Trithion	2.16	5
113	Perthane	2.17	100-250
100	binapacryl*	2.19	3
	p, p' -methoxychlor, monochloro ethylene analog (c)	2.27	35
21	chlorobenzilate	2.31	75
314	chloropropylate	2.33	85V
465	lelptophos photo product	2.34	3
endrin aldehyde (d)		2.35	4
230	2, 4, 5-T propylene glycol butyl ether ester	2.38	--
202	p.p' -TDE	2.38	3.5
437	Chlornidine (Torpedo)	2.39	3
	2, 8-dihydromirex (mirex photoproduct)	2.41	3.5 (Ni)
421	Cis nonachlor	2.42	1.8
201	o, p' - DDT	2.49	4
53	ethion*	2.51	12
476	Compound k (from tech. chlordane)	0.83, 2.53	5-6
	enddrin alcohol (d)	2.55	3.5
664	chlorthiophos	2.24, 2.36, 2.56	5 (Ni)
354	tetrasul	2.64	4
	10, 10-dithydromirex (mirex photoproduct)	2.67	7 (Ni)
300	endosulfan sulfate (Thiodan sulfate)	2.72	5
67	chlordecone (kepone)	2.76	4-5
116	Prolan	2.81	4
597	chlornijtrofen (MO)	2.85	5

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chloropyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
;147	carbophenothion (Trithion)	2.89	4
	perthane, trichloroethane analog (e)	2.89	6
231	2.4, 5-T butoxy ethyl ester	2.91	4
232	2, 4, 5-T isoo0ctyl ester (technical)	2.56, 2.96, 3.26	20
542	p, p' -methoxychlor olefin	2.97	8
1098	butyl benzyl phthalate*	3.06	25
31	DDT (technical)	0.37 , 2.49, 3.09	5
200	p, p' -DDT	3.09	4
70	Captafol (Difolatan)	3.11	32
	2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo--p-dioxin	3.16	40-90
462	o,p' -methoxychlor	3.27	8
10	Bulan	3.39	3
35	Dilan	2.33, 2.81, 3.39	5-10
	p, p' -methoxychlor, dichloroethane analog (f)	3.43	250
337	enjdrin ketone (Delta Keto 153) (d)	3.6	5
265	propargite (Omite)*	3.06 , 3.7 , 5.9	2000
390	dieldrin chlorohydrin	3.8	3
	8-monohydromirex (mirex photopruduct)	3.8	5 (Ni)
285	nitralin (Planavin)*	3.8	4.5
81	phosmet (Imidan)*	4.0	1.5
68	dinocap (karathane)*	4.0, 4.3, 4.8, 5.1	60
442	o, p' -dicofol (kelthane) (a)	0.82, 4.1	100
51	EPN*	4.3	5
	10-monohydromires (mirexs photoproduct)	4.3	7 (Ni)
579	benzoylprop-ethyl (Suffix)	4.3	13
340	photodieldrin A (b)	4.4	6
347	bromopropyvlate*	4.4	12
69	p, p'-dicofol (kelthane) (a)	0.99, 4.4	20
(87)	methoxychlor (technical)	0.47, 1.67, 4.6	9-10
87	p, p'-methoxychlor	4.6	8-10

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chloropyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
368	tetrasul sulfoxide	4.7	5
138	tetradifon (Tedion)	5.0	6
60	azinphos-methyl (Guthion)*	5.1	50
199	phosalone (Zolone)	5.4	7
445	leptophos (Phosvel)	5.7	10
165	mirex	5.8	8
SD-7438* 5.9		12	
154	azinphos-ethyl (Ethyl Guthion)*	5.3	45
1038	di-2-ethylhexylphthalate*	6.5	170
318	dialifor (Hercules 14503)	6.5	28
	n-acetyl nitrofen	6.6 (skewed)	500
175	coumaphos (Co-Ral) oxygen analog.	7.4	170
349	bensulide (Prefar)*	9.5	120
15	coumaphos (Co-Ral)	9.7	100-150
(203)	hexachlorophene dimethyl ether	9.7	7
1035	di-n-octyl phthalate*	12.0	360
203	hexachlorophene	13V	380V
	octachlorodibenzo-p-dioxin	31	35
	Multiple Peak Chemicals		
168	TEPP*	0.04, 0.1, 0.2 1.57, 2.14	4000V
229	2, 4, 5-T BEP ester (technical)	0.16, 0.68, 1.08 2.85, 3.31, 5.3, 7.0	35
1018	Aroclor 1221	0.21, 0.27, 0.32, 0.37, 0.40, 0.53, 0.60, 0.65 0.70, 0.77, 0.90, 1.01, 1.30, 1.45, 1.55, 1.80, 1.90, 2.12, 2.27, 2.70, 3.16	40
399	Aroclor 1242	0.40, 0.52, 0.58, 0.68	

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chloropyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
		0.73, 0.88, 0.98, 1.05, 1.24, 1.42, 1.52, 1.78, 1.87, 2.24, 2.61	50
1092	Aroclor 5442	0.40, 0.53, 0.60, 0.69, 0.76, 0.91, 1.01, 1.09, 1.28, 1.45, 1.53, 1.81, 1.90, 2.27, 2.65, 3.14, 3.7, 4.2, 4.6, 5.0, 5.3, 5.8, 6.4, 6.9, 7.9, 8.2, 8.7, 9.9, 11.5 (peaks continue to appear to relative retention time of 21; Faster eluting column recommended	250
20	chlordane (technical)	0.45, 0.63, 0.71, 0.81, 0.97, 1.16, 1.45, 1.62, 2.61	12
398	Aroclor 1248	0.52, 0.58, 0.68, 0.82, 0.87, 0.98, 1.05, 1.26, 1.42 1.52, 1.78, 1.88, 2.24, 2.59, 3.10	50
	endosulfan alochol (Thiodan alcohol) (g)	0.64, 1.31, 1.67, 2.11	14
225	2, 4-D BEP ester (technical)	0.69, 1.66, 2.00, 3.22, 401, 10.2	60
370	Aroclor 1254	0.89, 1.00, 1.07, 1.30, 1.55, 1.82, 1.92, 2.24, 2.68, 3.14, 3.7, 4.2 4.4, 5.0, 5.9	30

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chloropyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
1157	diisooctyl phthalate*	0.91, 5.5, 6.2, 6.7, 7.6, 9.0, 10.5	850
137	Strobane	1.09, 1.32, 1.53, 1.80, 1.94, 2.09, 2.33, 2.69, 2.10, 3.7	40
146	toxaphene (camphechlor)	1.20, 1.54, 1.80, 2.39, 2.68, 3.12, 3.7, 4.4, 4.6, 5.1	30
1020	Aroclor 1262	1.29, 1.53, 1.89, 2.11, 2.27, 2,66, 2.88, 3.12, 3.6, 4.2, 5.0, 5.9, 6.5, 6.7, 8.0, 9.3	20
371	Aroclor 1260	1.31, 1.53, 1.90, 2.11, 2.26, 2.68, 2.90, 3.14, 3.6, 4.2, 5.0, 5.9, 6.6., 8.0, 9.3	20
1094	Aroclor 4465	2.08, 2.22, 2.67, 2.88, 3.11, 3.6, 4.2, 4.5, 5.0, 5.4, 5.9, 6.5, 6.6, 8.0, 9.3, 12.1 (and peaks eluting ell beyond normal retention times ; faster eluting column recommended)	40
113	Aroclor 5460	(peaks elute well beyond nromal retention time range; faster eluting column recommended)	

EPA/FDA Number	Chemical	Retention Time Relative to chloropyrifos Ratio	Response ng for 1/2 FSD
	5, 10-dihydromires (mirex pholtoproduct)	2.14, 2.47, 3.21, 4.3	100 (Ni)
1187	dilsohexyl phthalate*	2.45, 2.66, 2.90, 3.28	340
1244	Aroclor 1268	3.8, 4.7, 5.4, 7,0, 8.8, 10.0, 13.1, 16.2	30 (Ni)

*Not chlorinated.

(a) p,p' and o. p' dicofol degrae on the GLC column to the respective dichlorobenzophenone, which also appears as al peak. The degree of degradation (ratio of dichlorobenzophenone peak to parent peak) varies from column to column.

(b) Burke, J.A., Bull. Environ. Contamin. and Toxicol. 4, 152-158 (1969).

(c) 2, 2-bis (p-methoxyphenyl) - 1 - chloroethene. [Prepared by alkaline treatment of 2,2-bis (p-methoxyphenyl) - 1, 1 - dichloroethane.]

(d) Phillips, D.D., et al., J. Agr. Food Chem. 10, 217 (1962).

(e) 2, 2-bis (p-ethylphenyl) - 1, 1, 1-trichloroethane. [Prepared per : Forrest, James, et al., J. Chem. Soc. 333-9 (1946)]

(f) 2, 2-bis (p-methoxyphenyl)- 1, 1-dichloroethane. [Prepared per : U.S. patent # 2,484, 057, Oct. 11, 1949]

(g) 1, 4, 5, 6, 7- 7-hexachloro-2, 3-bis (hydroxymethyl) - bicyclo- [2, 2, 1] heptene-5.

الفصل الرابع عشر

** كروماتوجرافى السائل عالى الأداء

High performance liquid chromatography (HPLC)

* من افضل الاجهزة فى الكشف عن مخلفات المبيدات فى المكونات البيئية المختلفة مهما كانت درجة تواجدها وفى حدود تركيزات قليلة للغاية وهو يتميز بقدرة عالية أو فائقة فى تحليل مخلفات المبيدات فى وقت سريع جدا وبكفاءة عالية ومن خلال خطوات بسيطة مقارنة بما هو متبع مع الكروماتوجرافى الغازى العادى . وتتمثل الخبرة الجيدة فى استعمال هذه الوسيلة المتطورة فى المقدرة على فصل المنحنيات عن بعضها . وقبل الخوض فى النظرية التى بنى عليها عمل هذا الجهاز نشير باختصار الى تركيب وتشغيل نموذج من Hplc حتى نستطيع فهم اسلوب ونظرية الجهاز .

*** تركيب وتشغيل جهاز Hplc :**

الرسم التالى يوضح مكونات جهاز Hplc :

خزان المذيب

وسيلة التدريج المضخة أو المضخات

خافض العينة

العمود

منظم الحرارة

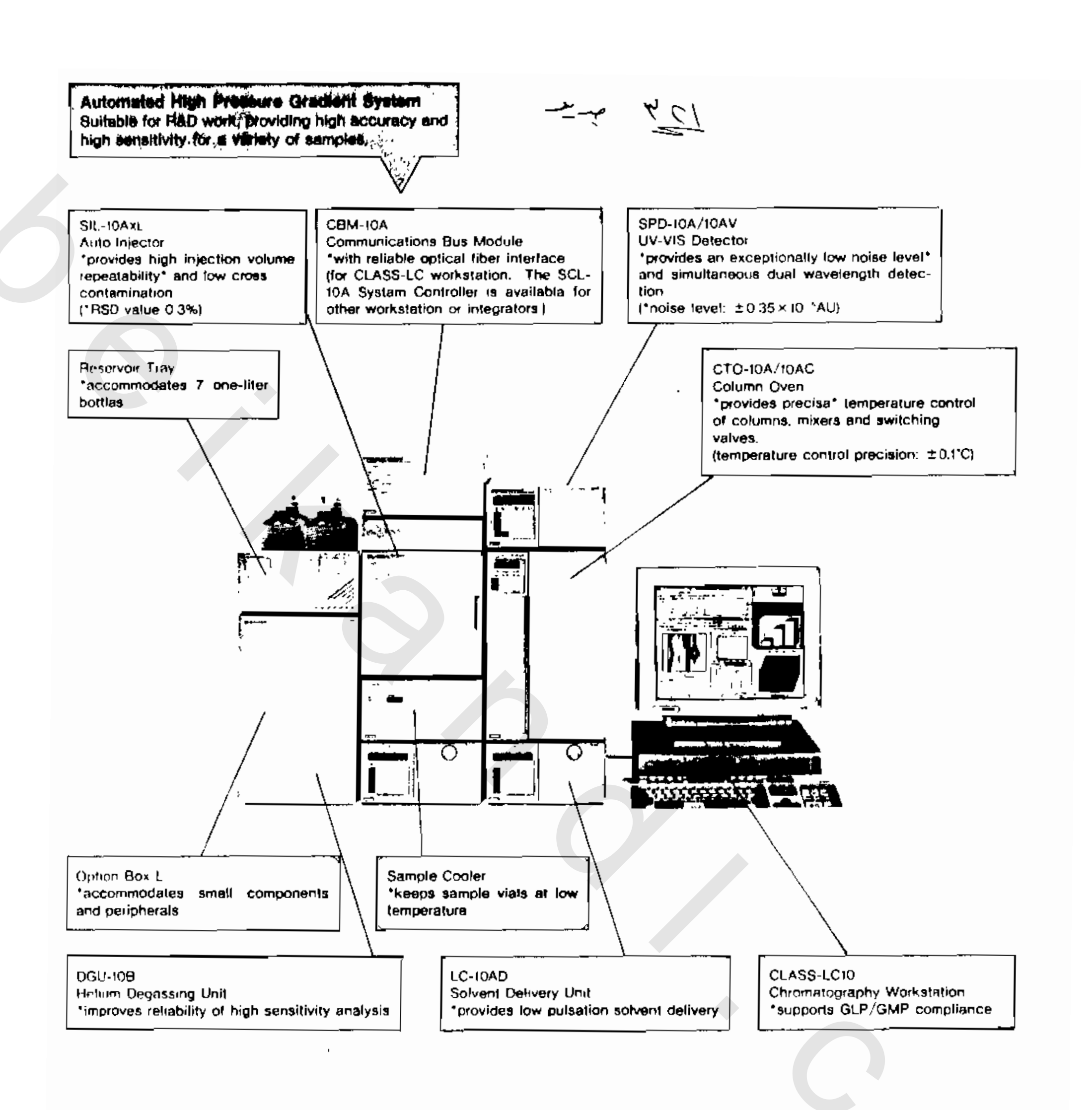
الكشاف او الكشافات مسجل البيانات

الطابعة (المسجل)

تعتبر اجهزة Hplc غاية فى التعقيد مقارنة بالاجهزة التى يستخدم فيها العمود المفتوح بينما يمكن تسمية الكروماتوجرافى السائل الحديث بانه كروماتوجرافيا العمود حيث من الضرورى ان تكون كل المكونات التى تلامس المذيب مقاومة لنظم المذيبات المائية والعضوية المستخدمة . وكما سبق القول يتوقف اختيار الكشاف على الحساسية والمقدرة فى الكشف والتعريف . الفصل السريع والدقيق يتطلب اعمدة خاصة تتميز بالكفاءة والثبات كما يجب ان يكون سريان المذيب بمعدل ثابت ايضا .

(١) بصرف النظر عن نوع الخزان الا انه يجب ان يكون قادرا على تزويد وحدة أو وحدات الضخ بالمذيب الكافى لعمليات التقدير والكشف وبحجم كافى لا نجاز عدد من التحليلات .

(ب) تعتبر المضخة او المضخات او نظام الضخ نفسه من اهم الاجزاء الموجودة فى اجهزة HPLC حيث تقوم المضخة بدفع الوسط المتحرك (المذيب) داخل العمود وهناك مضخات ذات حجم ثابت او ضغط ثابت او تتميز بالصفتان (تحقق حجم وضغط ثابتين) ويفضل انواع المضخات



شکل توضیحی لمکونات جهاز HPLC

ذات المقدرة على الامداد بالطور المتحرك وبسريان ثابت ولكن بمعدلات مختلفة مع اقل شوشرة Noise مع الضغط المنخفض والعالى . وهناك المضخات الدافعة للغاز ومنها ذات المكابس الملفوفة والغازية وهى تعتمد على ضغط الغاز فى الدفع والنوع الملفوف يصلح لتوفير الضغط الثابت (١٥٠٠ ضغط جوى) ولكنها لا تستخدم كثيرا فى التشغيل المتدرج بينما النوع الدافع للغاز يصلح فى التشغيل المتدرج . هناك المضخات الدافعة للسائل حيث تستخدم فى نظام الكبس الضخ الهيدروليكى لدفع السائل . يؤدى استعمال مكبسين او غشائين او اكثر الى الامداد بسريان عديم الشوشرة وهى تصلح للتشغيل المتدرج .

هناك المضخة الكابسة الميكانيكية حيث تقوم بتدفق المذيب اثناء دفعة شوط المكبس السابقة وتعيد ملء غرفة المكبس اثناء دفعة شوط السحب المرتدة وعادة يتم تشغيل مكبسين أو أكثر لانقاص الشوشرة ويمكن الحصول من هذه المكابس على سريان ثابت والتشغيل على ضغوط مرتفعة والمخزن غير محدود السعة كما يمكن الحصول على التدرج باستعمال مضختان يتم التحكم فيهما الكترونيا .

هناك المضخة الخاصة وفيها يزيح المكبس الناقل للحركة المذيب من الخزان ويدفعه الى العمود وعندما يحدث الاتزان فى نظام الدفع والتدفق يحدث بثبات تحت ضغوط مرتفعة . المخزن هنا محدود السعة بالنسبة لحجم الحافتين .

(جـ) فى نظام الكروماتوجرافى السائل عالى الاداء يفضل ان يكون نظام الازاحة متدرجا gradient وهى تفيد فى تحسين كفاءة الفصل وفى حالة المخاليط المعقدة التى لها قيم k (k فى المنحنى تعنى حجم الازاحة للمركب) على درجة كبيرة من الاختلاف . تفيد الازاحة المتدرجة فى نظام الفصل بالاستبدال الايونى بسبب ان التغير فى قوة ايون الايدروجين PH مع الوقت تعتبر فى غاية الاهمية والفائدة .

(د) يتم حقن العينة باستعمال حقنة على ضغط مرتفع مع ايقاف تدفق المذيب وتكون نتيجة الحقن جيدة اذا وضعت العينة مباشرة فى قمة العمود . يلاحظ ان مدخل الحقن ذو ضغط عالى قد يصل الى ١٥٠٠ ضغط جوى والحاكم الموجود فى فتحة الحقن يجب الا يتأثر بالمذيب ويكون هناك توافق معه كما يجب ان يقاوم الضغوط العالية المرتدة . تمتاز طريقة استخدام الحقن كما فى الكروماتوجرافى الغازى بأنها بسيطة واقتصادية وتجيز تحميل احجام متغيرة من العينة فى نطاق ضيق على قمة العمود والمشكلة فى هذه الطريقة تتمثل فى الضغط العالى واحتمالات تفتيت الحاكم بواسطة ابرة الحقن ومن ثم تتراكم فى قمة العمود مما يؤدى الى نقص فى كفاءة العمود وانسداد مسار المذيب وزيادة كبيرة فى الضغط المرتجع او المرتد .

(هـ) يمكن ايقاف تدفق المذيب فى اتجاه سريان الحقن مما يؤدى الى هبوط الضغط ومن ثم يسهل الحقن مما يزيل الضغط المرتجع ويؤدى استئناف سريان المذيب الى معاودة حمل العينة فى العمود ويكون انتشار السائل بطئ ولا تتأثر فعالية العمود كثيرا .

(و) كما سبق القول تعتبر اجهزة Hplc ممثلة للكروماتوجرافى العمود column ونود الاشارة الى ان معظم الاعمدة تصنع من الصلب الغير قابل للصدأ او من زجاج خاص يتحمل الضغط العالى فى حدود ٥٠٠ ضغط جوى وتختلف فى الطول والقطر تبعا لنوع مادة التعبئة وتتراوح فى الطول من ١٠ - ٣٠ سم وحتى عدة امتار ومتوسط القطر الداخلى ٢,٦ ملليمتر . يمكن التحكم فى درجة حرارة العمود باستعمال الافران ذات التسخين الهوائى والحمامات المائية ووحدات التسخين التى تسخن وتبرد عن طريق دوران المياه . يمكن استخدام جهاز Hplc على درجة حرارة المعمل اما درجات الحرارة العالية يمكن الاستفادة منها فى تقليل احجام الاحتجاز وتقليل سرعة سريان المذيب . ولا يمكن تجاهل اهمية منظم درجة حرارة الكشاف فى الحفاظ على ثبات النظم الاسبكتروفوتومترية .

(ز) يمكن لهذا الجهاز العمل على معظم انواع الكشافات المتاحة بدرجة تتوقف على الحساسية المطلوبة فى التحليل ومثال ذلك الكشاف اللونى الاسبكتروفوتومترى والفلوربسنس وكشافات قياس التغير فى معامل الانكسار والتأين تفيد فى حالة عدم الحاجة الى حساسية عالية . ومن اكثر الكشافات شيوعا فى اجهزة Hplc كشافات الاشعة فوق البنفسجية uv وهناك كشافات ذات مدى موجى كبير من ١٩٠ - ٨٠٠ نانوميتر حيث يمكنها الكشف عن كميات ضئيلة للغاية من المبيدات فى حدود نانوجرامات او اجزاء منها .

(ح) يتوفر حاليا فى الاجهزة الحديثة معدات متطورة جدا للتسجيل وابراز النتائج من خلال برامج الحاسبات الالية الموجود ة فى الاجهزة .

*** التقدير الوصفى والكمى للمخلفات بواسطة جهاز Hplc :**

تتبع نفس طرق الكروماتوجرافى الغازى فى التقدير الكمى للعينات بعد فصلها بجهاز Hplc سواء بالطرق الغير كروماتوجرافية او الكروماتوجرافية والتى تعتمـــد على مطابقة قيم فترة الاحتجاز (النسبى) Retention time بالقيم الموجودة فى المعامل او بقيم العينات القياسية شريطة ان يتم الفصل تحت نفس ظروف التشغيل والفصل . ويمكن قياس النسبة بين درجة الاستجابة لاكثر من كشاف تختلف فى حساسيتها فى الكشف عن نفس المركب ، وحديثا توجد اجهزة Hplc مزودة باكثر من كشاف احدهما لقياس معامل الانكسار والاخر للامتصاص الضوئى او كشافان ذو مقدرة على الامتصاص الضوئى مختلفة . الطرق الغير كروماتوجرافية تعتمد على الجواهر الكشافة المناسبة للتفاعلات الكيميائية ويمكن الاستعانة ببعض الاجهزة المنظورة لتعريف المركبات المفصولة مثل جهاز الرنين النووى المغناطيسى Nuclear magnetic Resonance (NMR) أو جهاز قياس الكتلة Mass spectrometer (Ms) أو الاشعة تحت الحمراء IR .

يتم تحليل المنحنيات رياضيا والتقدير الكمى للمركبات بنفس الطرق التى ذكرت فى كروماتوجرافيا الغاز السائل Glc .

* **تأكيد النتائج Data confirmation :**

يمكن اتباع الطرق التالية لتأكيد النتائج التى تحصل عليها من الفصل الكروماتوجرافى سواء بالـ Glc أو Hplc :

١ - استعمال اعمدة مختلفة القطبية .

٢ - استعمال كشافات متخصصة .

٣ - تقييم معامل التجزئ (p-value) .

٤ - التغيرات الكيميائية من خلال الاشتقاق .

* وفيما يلى طرق حساب نتائج فصل المبيدات بواسطة جهاز الكروماتوجرافى السائل فائق القدرة Hplc .

BONDED PHASES FOR HPLC AND THEIR ABBREVIATIONS

Phase	Description
SI	**Silica** $-Si-OH$ Classic normal phase material. Suitable for separating polar non-ionic organic compounds.
C1	**TMS, SAS, Trimethyl** $-Si-CH_3$ Reversed Phase material. Unique selectivity for polar and multifunctional compounds. Least retentive of all alkyl group bonded phases for non-polar solutes.
C2	**RP-2, Dimethyl** $-Si-C_2H_5$ Reversed Phase material. Less retentive than C4, C8, or C18. More retentive than C1.
C3	**Propyl** $-SiC_3H_7$ Reversed Phase material. Used in Hydrophobic Interaction Chromatography (HIC) of proteins and peptides.
C4	**Butyl** $-Si-C_4H_9$ Reversed Phase material. Useful for ion-pairing chromatography. Offers less retention than C8 and C18 phases for non-polar solutes. When bonded to 300Å silica, it is an ideal phase for analyzing large proteins and hydrophobic peptides.
C6	**Hexyl** $-Si-C_6H_{13}$ Reversed Phase material. Useful for ion-pairing chromatography. Less retentive than C8 and C18 phases.
C8	**MOS, RP-8, LC8, Octyl** $-Si-C_8H_{17}$ Reversed Phase material. Similar selectivity to C18 but less retentive. Wide applicability (e.g. pharmaceuticals, nucleosides, steroids) When bonded to 300Å silica, it is an ideal phase for peptides, peptide mapping, and small hydrophillic proteins.
C18	**ODS, RP-18, LC18, Octadecyl** $-Si-C_{18}H_{37}$ Classic Reversed Phase material. Most retentive for non-polar solutes. Excellent for ion-pairing chromatography. Wide applicability (e.g. nucleosides, nucleotides, steroids, pharmaceuticals, vitamins, fatty acids, environmental compounds). When bonded to 300Å silica, this phase is perfect for separating small hydrophilic peptides
Phenyl, C_6H_5	$-Si-CH_2CH_2CH_2-C_6H_5$ Reversed Phase material. Unique selectivity. Useful for analyzing aromatic compounds. When bonded to 300Å silica, this phase is useful for HIC.
CN	**CPS, PCN, Cyano, Cyanopropyl, Nitrile** $-Si-CH_2CH_2CH_2CN$ Can be employed as either a Reversed Phase or normal phase material. Slightly polar, unique selecti ity for polar compounds in both Reversed Phase an normal phase modes. Equilibrates very rapidly, suitable for gradient separations. Useful for many pharmaceutical applications (e.g. tricyclic antidepres sants).
NH_2	**APS, Amino, Amino Propyl Silyl** $-Si-CH_2CH_2CH$ Can be employed as Reversed Phase, normal phas or weak anion exchange material. Reversed Phase useful for separating carbohydrates. Normal phase alternative selectivity to silica, not deactivated by small amounts of water. Ion exchange: weak anion exchanger when used with buffers. Separates anio and organic acids.
NO_2	**Nitro** $-Si-NO_2$ Normal phase material. Separates aromatic compounds and compounds with double bonds.
OH	**Diol, Glycerol** $-Si-CH_2CH_2CH_2OCH_2CH(OH)CH(OH)$ Can be employed as either a Reversed Phase or normal phase material. Reversed Phase: used for Gel Filtration Chromatography (GFC) of proteins a peptides. Normal phase: similar selectivity to silica not deactivated by small amounts of water.
SAX	**SB, Quarternary amine, Strong Base** $-Si-CH_2CH_2CH_2N^{+}(CH$ Ion exchange material. Strong anion exchangers (basic) are useful for separating nucleotides, nucle sides, and organic acids.
SCX	**SA, Sulfonic Acid, Strong Acid** $-Si-CH_2CH_2CH_2SO_2OH$ Ion exchange material. Strong cation exchangers (acidic) are useful for separating organic bases.
WAX	**PEI, DEAE, Polyethyleneimine, Diathylaminoethyl, Weak Base** $-Si-CH_2CH_2N(CH_2CH_3)_2$ Ion exchange material. Weak anion exchangers (acidic) are most useful for analyzing acidic prote and peptides.
WCX	**CM, Carboxymethyl, Weak Acid** $-Si-CH_2CC$ Ion exchange material. Weak cation exchangers (basic) are most useful for analyzing basic protei and peptides.

0.009

SOLVENT MISCIBILITY TABLE

0.010

POLARITY CHART

Relative Polarity	Compound Formula	Group	Representative Solvent Compounds
Nonpolar	R—H	Alkanes	Petroleum ethers, ligroin, hexanes
Increasing Polarity ↓	Ar—H	Aromatics	Toluene, Benzene
	R—O—R	Ethers	Diethyl ether
	R—X	Alkyl halides	Tetrachloromethane, chloroform
	R—COOR	Esters	Ethyl acetate
	R—CO—R	Aldehydes and ketones	Acetone, methyl ethyl ketone
	R—NH_2	Amines	Pyridine, triethylamine
	R—OH	Alcohols	Methanol, ethanol, isopropanol, butanol
	R—$COHN_2$	Amides	Dimethylformamide
	R—COOH	Carboxylic acids	Ethanoic acid
Polar	H—OH	Water	Water

SOLVENT	POLARITY INDEX	REFRACTIVE INDEX @ 20° C	UV (nm) CUTOFF @ 1 AU	BOILING POINT (°C)	VISCOSITY (cPoise)	SOLUBILITY IN WATER (% w/w)
Acetic Acid	6.2	1.372	230	118	1.26	100
Acetone	5.1	1.359	330	56	0.32	100
Acetonitrile	5.8	1.344	190	82	0.37	100
Benzene	2.7	1.501	280	80	0.65	0.18
Butyl Acetate	4.0	1.394	254	125	0.73	0.43
n-Butanol	3.9	1.399	215	118	2.98	7.81
Carbon tetrachloride	1.6	1.466	263	77	0.97	0.08
Chloroform	4.1	1.446	245	61	0.57	0.815
Cyclohexane	0.2	1.426	200	81	1.00	0.01
1,2-Dichloroethane[1]	3.5	1.444	225	84	0.79	0.81
Dichloromethane[2]	3.1	1.424	235	41	0.44	1.6
Dimethylformamide	6.4	1.431	268	155	0.92	100
Dimethyl sulfoxide[3]	7.2	1.478	268	189	2.00	100
Dioxane	4.8	1.422	215	101	1.54	100
Ethyl Acetate	4.4	1.372	260	77	0.45	8.7
Ethanol	5.2	1.360	210	78	1.20	100
di-Ethyl Ether	2.8	1.353	220	35	0.32	6.89
Heptane	0.0	1.387	200	98	0.39	0.0003
Hexane	0.0	1.375	200	69	0.33	0.001
Methanol	5.1	1.329	205	65	0.60	100
Methyl-t-Butyl Ether[4]	2.5	1.369	210	55	0.27	4.8
Methyl Ethyl Ketone[5]	4.7	1.379	329	80	0.45	24
Pentane	0.0	1.358	200	36	0.23	0.004
n-Propanol	4.0	1.384	210	97	2.27	100
iso-Propanol[6]	3.9	1.377	210	82	2.30	100
di-iso-Propyl Ether	2.2	1.368	220	68	0.37	
Tetrahydrofuran	4.0	1.407	215	65	0.55	100
Toluene	2.4	1.496	285	111	0.59	0.051
Trichloroethylene	1.0	1.477	273	87	0.57	0.11
Water	9.0	1.333	200	100	1.00	100
Xylene	2.5	1.500	290	139	0.61	0.018

■ Immiscible

□ Miscible

SYNONYM TABLE

1. Ethylene Chloride
2. Methylene Chloride
3. Methyl Sulfoxide
4. tert-Butyl Methyl Ether
5. 2-Butanone
6. 2-Propanol

HPLC THEORY AND CALCULATIONS

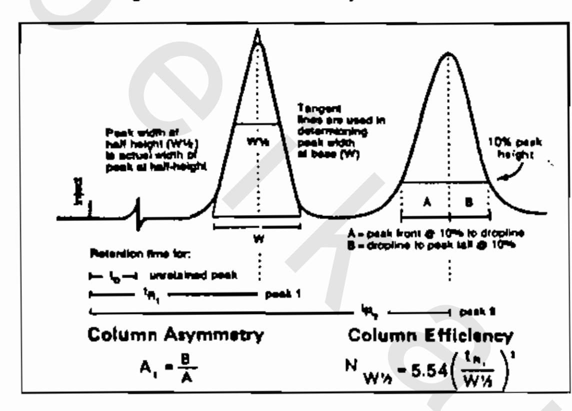
HPLC CALCULATIONS

COLUMN EFFICIENCY: In general, N = Number of Theoretical Plates, a is a constant depending on method used, t_r = retention time of peak, and W = the peak width at a given peak height.

$$N = a\left(\frac{t_r}{W}\right)^2$$

Method	a
Peak Width ½ Peak Height	5.54
Peak Width at 4.4% Peak Height (5σ method)	25
Tangent	16

The peak width at ½ height is the most commonly used method for calculating HPLC column efficiency.



PEAK ASYMMETRY: A_s = B/A at 10% peak height.

CAPACITY FACTORS (RELATIVE RETENTION): The Capacity Factor, k', of a sample component is a measure of the degree to which that component is retained by the column relative to an unretained component.

$$k' = (t_r - t_o)/t_o$$

Where t_r is the elution time of retained component, and t_o is the elution time of the unretained sample.

SELECTIVITY: (α): α = k'1/k'2

RESOLUTION: Rs, defined as the amount of separation between two adjacent peaks, is given by

$$Rs = (1/4)\,(\alpha - 1)\,(N)^{1/2}\,(k'/1 + k')$$

where k' is the average value for the two peaks.

ADJUSTING FLOW RATE FOR DIFFERENT COLUMN IDs: When scaling up from analytical to preparative modes or when scaling down from analytical to microbore LC, it is often desirable to keep retention times constant. The flow rate can be adjusted so that the columns operate at the same linear velocity. When switching from a column with a radius (0.5 • I.D.) of r1 to another with a radius of r2, the flow rate must be altered by a factor of X, where

$$X = (r2/r1)^2$$

0.008

For example, when scaling up from a 250 x 4.6mm column to 250 x 10mm I.D. column, the flow rate must be increased by factor of 4.73 in the 10mm column to generate the same linear velocity as that of the 4.6mm I.D. column, as derived below

$$X = (5.0/2.3)^2 = 4.73$$

The general formula which will convert flow rate from any given column dimension to any other is as follows:

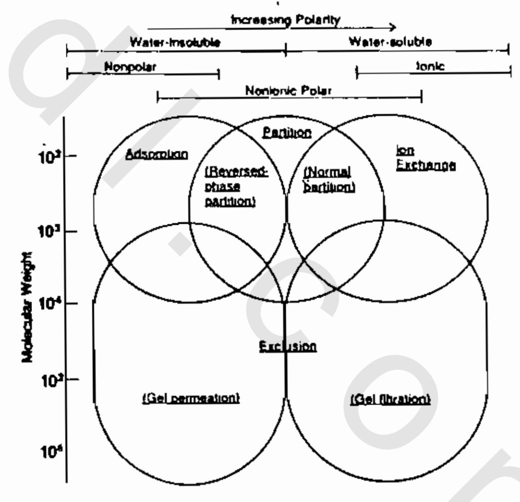
$$F2 = F1 \cdot (L2/L1) \cdot (r2/r1)^2$$

Where: L = length of the column, in mm
r = radius of the column, in mm
F = flow rate, in ml/min
1 designates the first, or reference, column
2 designates the second column

EFFECT OF DIFFERENT CONDITIONS ON SAMPLE RETENTION

Change in Separation	Effect on Retention Time		
	t_o	Run Time	Band Spacing
Flow rate, F	1/F	1/F	None
Column volume, V_m	V_m	V_m	None
Increase in vol - % strong solvent	None	Decrease	Small change
New strong solvent	None	Changes	Changes
pH value	None	Changes	Changes
Column packing (e.g., cyano vs C18)	Little	Changes	Changes
Increase temperature	None	Decrease	Small change
New mobile phase additives	None	Changes	Changes

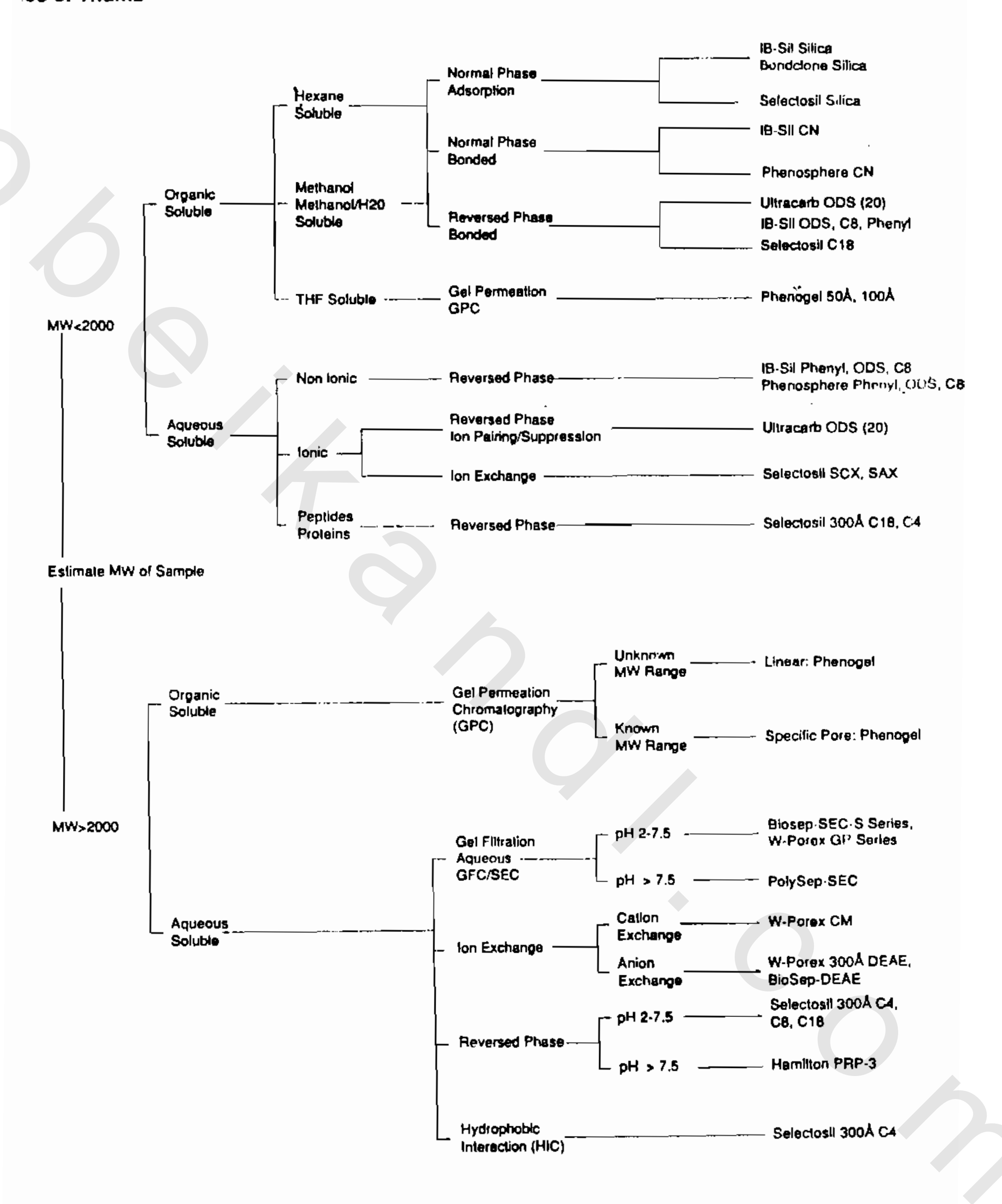
APPLICATIONS OF LIQUID CHROMATOGRAPHY



(From: D.L. Saunders, in *Chromatography*, 3rd ed, E. Heftmann, Ed., p. 81, Van Nostrand Reinhold, New York, 1975. With permission.)

OLUMN SELECTION GUIDE

les of Thumb



الفصـل الخامـس عشـر

– النظائر المشعة والكشف عن المبيدات والكيميائيات الأخرى :

* مقدمـــــــة .
* انواع النشاط الاشعاعى .
* اضمحلال الاشعاع .
* وحدات النشاط الاشعاعى .
* وحدة التعرض الاشعاعى .
* حساب الجرعة الاشعاعية .

– بعض الاصطلاحات الاساسية فى مجال تقدير المبيدات المشعة .

* جسيمات الفا (α)
* جسيمات بيتا (B)
* الانود Anode والكاثود Cathode .
* ن العداد والعد . .
* العنصر الحامل .
* الخلفية .
* تشتت الاشعاع .
* الاضمحلال .
* الكورى curie وحدة الاشعاع .
* التحطم النووى .
* معدل التحطم أو الاضمحلال .
* كفاءة جهاز العد أو العداد .
* معيار النهاية العظمى للطاقة .
* عداد الغاز .
* عداد انسياب الغاز .
* نصف العمر البيولوجى .
* نصف عمر النشاط الاشعاعى .
* النظير Isotope .
* شعاع جاما (γ) Gamma ray

* التحليل بتخفيف النظير المشع .
* اصطلاح Mev .
* الكشف عن النشاط الاشعاعى Monitoring .
* النشاط النوعى Specific activity .
* الاشعاع Radiation .
* النشاط الاشعاعى Radio activity .
* كيمياء المواد المشعة Radio chemistry .
* المنتج النشط اشعاعيا Parent radio active product .
* جرعة التعرض روتنجون Roentgen (r) .
* راديو اوتوجراف Radio autograph .
* راديوجراف Radiograph .
* Gy .
* الاخماد فى انبوبة العد Quanching in counting tube .
* الامتصاص الذاتى Self absorption .
* التأثير البيولوجى النسبى Median lethal dose .
* الجرعة الوسيطة القاتلة (MLD)
* الفترة القاتلة الوسيطة (MLT) Median lethal time
- التشييع واستخدام المواد المشعة .
- شروط انشاء معمل كيمياء مواد مشعة .
- تخزين المواد المشعة Storage .
- طرق اختيار المركبات المشعة .
- أمان المبيدات المشعة safety .
- الكشف والقياس للنشاط الاشعاعى .

١ - عداد جايجر موللر Geiger-Muller counter
٢ - غرف التأين Ionization chambers .
٣ - عداد الحالة الغازية Gas phase counter .
٤ - عداد الغمر Immersion counter .
٥ - عداد السائل Liquid scintillation .
٦ - القياس الذاتى للاشعاع Auto radiography .
٧ - كشف الاشعاع على شرائح الكرماتوجرافى الورقى .

** النظائر المشعة والكشف عن المبيدات والكيميائيات الاخرى :

* مقدمـــــة :

الذرات التى لها نفس العدد الذرى ولنفس العنصر ولكنها تختلف فى الكتلة تعرف بالنظائر . النظائر المشعة أو الانوية المشعة التى تبعث بصفة مستمرة وتلقائية انواع معينة من الاشعاع تفيد كثيرا فى التحليل البيوكيميائى وفى تتبع مسار المواد الكيميائية بما فيها المبيدات داخل اجسام الكائنات الحية والتربة والنباتات وغيرها .

تتكون الانوية الذرية من البروتونات والنيترونات ويحدد عدد البروتونات العدد الذرى ومن ثم يمكن من خلاله تعريف العنصر وهو يكون مساويا لعدد الالكترونات المدارية وهو الشئ الضرورى لتحقيق تعادل الذرة . الكتلة الذرية للنواة تنسب الى النيوترونات الاضافية .

العدد الذرى = عدد البروتونات

الكتلة الذرية = مجموع عدد البروتونات والنيوترونات .

جدول (١) : الخواص الطبيعية لبعض النظائر المشعة المستخدمة .

Element	Symbol	Half-life	Beta emission	Gamma emission
Calcium	^{45}Ca	165 d	+	--
Carbon	^{14}C	5760 a	+	--
Chlorine	^{36}CI	3 10^5 a	+	--
Cobalt	^{60}Co	5.20 a	+	+
Hydrogen	^{3}H	12.2 a	+	-
Iodine	^{125}I	60 d	Electron capture	+
Iodine	^{131}I	8.04 d	+	+
Iron	^{59}Fe	45 d	+	+
Magnesium	^{28}Mg	21.4 h	+	+
Nitrogen	^{13}N	600 s	Positron	+
Phosphorrus	^{32}P	14.3 d	+	-
Potassium	^{40}K	10^9 a	Electron capture	+
Potassium	^{42}K	12.4 h	+	+
Sodium	^{22}Na	2.6 a	Positron	+
Sodium	^{24}Na	15 h	+	+
Sulphur	^{35}S	82.2 d	+	-

عادة يوضع على الرمز رقمان السفلى يمثل العدد الذرى والعلوى يمثل الكتلة الذرية ومثال ذلك $^{14}_{6}C$ وعمليا يحذف الرقم الدال على العدد الذرى (6) وبذلك يكون النظير المشع الخاص بذرة الكربون ^{14}C أو فى حالة الفوسفور ^{32}P وللتسهيل نقول كربون – ١٤ أو فوسفور – ٣٢ ... الخ . ولقد قصدت ان اكتب الرموز بالانجليزية حتى يتعود عليها القارئ والباحث .

يتوقف ثبات النواة الذرية على التوازن الحرج بين قوى الترابط والتجاذب بين البروتونات والنيوترونات فى حالة العناصر الخفيفة تكون النسبة بين النيوترونات والبروتونات (N : P) = ١ : ١ وهذا ضرورى حتى يتحقق الثبات للنواة ولكن زيادة الكتلة الذرية ترفع قيمة ثبات النواة ١,٥ : ١ . ففى حالة النواة التى بها اختلاف معنوى فى نسبة N : P عن هذه القيم تميل الى الدخول فى تفاعلات نووية حتى نحافظ على النسبة ومن ثم يقال على العنصر انه نظير مشع Isotope . لذلك فان الحجم الاقصى الذى بعده تكون اى نواة غير ثابتة وان جميع العناصر ذات الاعداد الذرية الاعلى من ٨٢ تكون مشعة

** انواع النشاط الاشعاعى :

اذا كانت النواة شديدة الثقل ورقمها الذرى يتعدى ٨٢ فانها قد تتحول الى ذرة اكثر ثباتا من خلال اعادة الترتيب عن طريق انفراد كل البروتونات والنيوترونات . وهذا يتأثر بانبعاث جسيم الفا الذى يحتوى على ٢ بروتون و ٢ نيوترون ونواة الهيليوم $^{4}He^{2+}$. وجسيمات الفا كبيرة وتنبعث مع عدد محدود من مستويات الطاقة وهى ذات مدى قصير حتى فى الهواء ولا تسبب سوى اضرار ضئيلة جدا ولكنها ذات تأثيرات خطيرة داخل الخلايا الحية أو الانسجة .

* الأنوية التى بها زيادة من النيوترونات تنقل النيوترون الى البروتون وهذه العملية قد تحافظ على نسبة (N : P) ولكنها تحتاج لفقد الالكترون لتحويل النيوترون الى بروتون مشحون بشحنة موجبة (+) ومن ثم يزيد العدد الذرى بمقدار (١) . الجسيمات التى ستنبعث ذات الكترون عالى السرعة يعرف بالنيجاترون (B) . ويقال عن الذرة انها تبعث اشعاع بيتا .

* الانوية التى تحتوى على زيادة من البروتونات تنقل البروتون للنيوترون مع انفراد جسيم بيتا المشحون (+) والذى يطلق عليه البوزيترون (B^{+}) مع اختزال العدد الذرى بمقدار (١) . وهو يتواجد لفترة قصيرة جدا ولكنه سرعان ما يتحد مع الكترون الذرة المجاورة .

* بالرغم من أن الانوية التى بها نسبة (N : P) فى المدى الثابت يظل من الممكن ان توجد فى حالة طاقية غير ثابتة وتبعث طاقة على صورة بروتونات للاشعاع المغناطيسى ذات أطوال موجية قصيرة جدا تعرف باشعة جاما وهى بدون كتلة أو شحنة ومن ثم لا تسبب تأثيرات أيونية مباشرة ولكن الطاقة المرتبطة بها تمتص بواسطة الذرة مسببة طرد الكترون يحدث تأثيرات ثانوية ايونية .

** اضمحلال الاشعاع : Decay

عملية عشوائية حيث يكون المعدل الذى عنده تضمحل كمية من النظير تتناسب طرديا مع عدد الذرات الغير ثابتة الموجودة فى العينة . العلاقة بين النشاط الاشعاعى للمادة مع الوقت غير خطية لذلك لا يمكن حساب نصف فترة الحياة ومن ثـــم وجب تطبيق معادلات رياضية حتى تكون العلاقة على صورة خط مستقيم .. ومن ثم يمكن حساب معدل اضمحلال النشاط الاشعاعى :

$$Loge = \frac{Nt}{N_0} = Lt$$

Nt * النشاط عند الوقت

N_0 * النشاط فى البداية .

L * ثابت اضمحلال النشاط الاشعاعى .

t * الوقت .

فى العلاقة الخطية المستقيمة تطبق المعادلة وتحسب معدل الاضمحلال

$$Loge\ Nt = \log N_0 - Lt$$

ومن التحويل من اللوغاريتم العادى تصبح

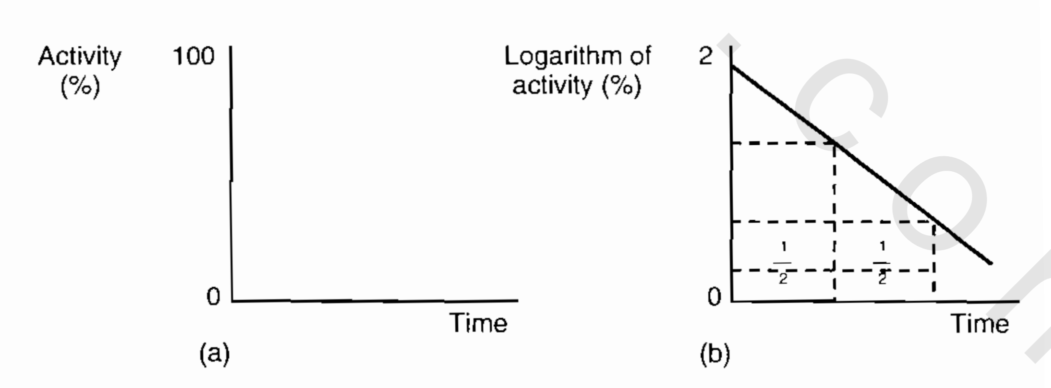
$$Log\ t_0\ Nt = Log\ t_0\ N_0 - 0.4343\ Lt$$

الانحدار للخط المستقيم = $- 0.4343\ L$

اذا كانت Nt مساوية لنصف N_0 فان t تصبح مساوية لنصف فترة الحياة ($t_{1/2}$) وبذلك تصبح المعادلة :

$$Log\ t_0\ 1 = Log\ t_0\ 2 - 0.4343\ Lt$$

$$t_{1/2} = \frac{0.3010}{0.4343\ L}$$



شكل (١) : إضمحلال الإشعاع وهو يتناسب طردياً مع عدد الذرات الغير ثابتة الموجودة

* * وحدات النشاط الاشعاعى :

الوحدة الاساسية للنشاط الاشعاعى هى الكورى Curie وهى تعتمد على نشاط واحد جرام من الراديوم النقى ٢٢٦ والذى بما يعادل تحطم ٣,٧ × ١٠^١٠ ذرة فى الثانية . ومن ثم يعرف الكورى على انه كمية النظير المشع الذى تعطى ٣,٧ × ١٠^١٠ ذرة تحطم فى الثانية أو هى قدرة الاشعاع المعادلة لواحد جرام راديوم وهناك المليكيورى = ١٠٠٠/١ من الكيورى .

$$\text{والميكروكيورى} = \frac{١}{\text{مليون}} \text{ من الكيورى}$$

والوحدة الجديدة الدولية للنشاط الاشعاعى هى البيكريل beequerel والمعادلة التاليه توضح العلاقة بينها وبين الكيورى :

واحد كيورى = ٣,٧ × ١٠^١٠ بيكريل

وتنسب البيكريل للجرام وتختصر (B_9g) أو ملليكيورى لكل جرام mcig . العينة التى فيها جميع ذرات عنصر معين مشعة يقال عنها خالية من الحمل Carrier Free وهذه يصعب جدا التعامل معها من الناحية العملية .

* * وحدة التعرض الاشعاعى :

الرونتجن (r) Roentgen وهى تعبر عن وحدة كمية الاشعة مقدرة طبيعيا على اساس الايونات السالبة والموجبة التى تتكون فى ٠,٠٠١٢٩٣ جم من الهواء /. وهذا الوزن من الهواء اذا حدث به تأين يكفى لحمل وحدة كهربائية استاتيكية كما ان الرونتجن يعادل طاقة ممتصة فى الهواء تعادل ٨٣,٨ ارج/جم . اى ان الرونتجن يعتبر وحدة قياس التعرض الاشعاعى من اشعة اكس أو جاما التى تؤين جزيئات الهواء . والرونتجن = ٢,٥ ملليكولوم / كيلوجرام .

* توجد وحدة قديمة تسمى ربب rep وهى اختصار المكافئ الطبيعى للرونتجن Roentgen equivalent physical وهى تعبر عن طاقة مقدارها ٩٣ ارج/جم من النسيج اللين كما سبق القول .

* هناك ما يسمى وحدة الجرعة الممتصة Radiation absorbed dose ويطلق عليها الراد radوهى تمثل وحدة كمية الاشعاع الممتصة وتساوى ١٠٠ إرج/جم وهى لا تعتمد على نوع الوسط الممتص ولكنها تعتمد على ما تتركه من طاقة ممتصة فى هذا الوسط . الجراى = ١٠٠ راد

$$= \frac{\text{١ جول}}{\text{كجم}}$$

* هناك ما يعرف بوحدة الجرعة المكافئة equivalent dose أو الريم Reem وهى كمية الطاقة الاشعاعية التى تحدث تأثيرا بيولوجيا يعادل التأثير البيولوجى لواحد راد

السيفرت = ١٠٠ ريم = $\frac{\text{جـــول}}{\text{كيلو جزام}}$

* هناك ما يعرف بالتأثير البيولوجى النسبى Relative biological effects وهو يعنى كمية الطاقة الاشعاعية التى تنتج تأثيرا بيولوجيا متساوى .

الجرعة بالريم = الجرعة بالراد × التأثير البيولوجى النسبى

يختلف معامل التأثير البيولوجى النسبى حيث يساوى واحد لاشعة اكس وجاما . ويساوى ١٠ فى حالة النيوترونات السريعة والبروتونات اما النويات الثقيلة المرتدة كجسيمات الفا يساوى ٢٠ ويطلق عليه معامل النوع Q. F. للاشعاع ويستخدم لتقدير الجرعة الاشعاعية .

**** حساب الجرعة الاشعاعية :**

اولا : العلاقة بين النشاط الاشعاعى ومعدل التعرض لأشعة جاما :

معدل التعرض ($\frac{\text{رونتجن}}{\text{ساعة}}$) = $\frac{١}{٢}$ مج م ط على بعد متر لكل كيورى .

حيث :

مج : مجموع .

م : مقدار اضمحلال التحول الاشعاعى .

ط : طاقة الفوتون من اشعة جاما .

ثانيا : الجرعة المكافئة :

الجرعة المكافئة = $\frac{\text{كمية الطاقة الممتصة بالخلايا او العضو البيولوجى}}{\text{وحدة الكتل بالجرام}}$ (ريم)

ويقصد بها متوسط ما يمتص فى الجسم او اى عضو منه وتتوقف على نوع المصدر المشع حيث يدخل فيها معامل التصحيح (التأثير البيولوجى النسبى) .

ثالثا : الجرعة الممتصة :

الجرعة الممتصة = $\frac{\text{مجموع الطاقات الممتصة}}{\text{وزن جسم الانسان كله بالكيلوجرام}}$ (راد)

حساب الجرعة الاشعاعية التعرضية :

الجرعة الإشعاعية التعرضية من أى مصدر إشعاعى يمكن ان تحدد على بعد معين اذا عرفت بالنسبة لمكان اخر فى الهواء أو الفراغ طبقا لقانون التربيع العكسى حيث :

$$D2 = D1 \frac{d1^2}{d2}$$ (رونتجن)

حيث D1 : هى الجرعة التعرضية على مسافة d1 من المصدر المشع .

حيث D2 : هى الجرعة التعرضية على مسافة d2 من المصدر المشع .

بمعرفة جرعة التعرض على بعد ١ متر من المصدر يمكن تحديد المكان المناسب لتقليل الجرعة الاشعاعية للوقوف عندها اثناء العمل بالمواد المشعة ذات المستوى الاشعاعى المرتفع .

*** بعض الاصطلاحات الاساسية فى مجال تقدير المبيدات المشععة :**

فى هذا المجال يجب الاشارة والاشادة بالزميل العزيز أ . د. عبد السلام قنصوة « استاذ كيمياء المبيدات ورئيس قسم وقاية النبات بكلية الزراعة جامعة عين شمس » حيث كان من الأوائل الذين عملوا على هذه المبيدات المشععة فى الولايات المتحدة الامريكية خلال دراسته لدرجة الدكتوراه والتى تناولت سلوك بعض المبيدا ت فى الحبوب المخزونة ، ومنذ ان عاد لارض الوطن بحمد الله اضطلع بمسئولية تدريس هذا الجزء لطلاب مرحلة البكالوريوس شعبة المبيدات والحشرات وكذلك طلاب الدراسات العليا . وللأسف الشديد لم نستطيع حتى كتابة هذه السطور العمل فى هذا الاتجاه بالكلية اللهم الا دراسات عن اثر الاشعاع على سلوك بعض الحشرات بالتعاون مع الزملاء فى وكالة الطاقة الذرية المصرية .

لقد آثرت قبل الكلام عن امان المواد المشعة والمبيدات المشععة ان اجعل القارئ على دراية ببعض الاصطلاحات الشائعة فى هذا المجال حتى لو حدث تكرار فهو لا يضر .

*** جسيمات الفا** α :

وهى جسيمات تنبعث من نظائر مشعة قليلة الثبات مثل الـ Promethium 147 ويتكون من اثنين بروتون واثنين نيوترون وهو يماثل نواة الهيليـــوم وله قوة اختراق منخفضة كما ذكر فى بداية الموضوع .

*** جسيمات بيتا** B :

للجسيم كتلة او شحنة مساوية لتلك الخاصة بالإلكترون وتنبعث الجسيمات (B) من نظائر مشعة كثيرة مثل ^{14}C وتتوقف قوة اختراقها على طاقتها التى تعتمد بالتالى على مصدرها وهى عادة منخفضة .

* **الأنود** Anode **والكاثود** Cathode :

الانود هو القطب الكهربى الموجب الذى تنجذب اليه الايونات ذات الشحنة السالبة اما الكاثود فهو القطب الكهربى السالب الذى تنجذب اليه الأيونات ذات الشحنة الموجبة .

* **العداد والعد** Counter & Count :

جهاز قياس الاشعاع مزود بعداد او مقياس به مؤشر يشير الى العدد الكلى لمدلولات ووقائع التأين خلال فترة محددة .

* **العنصر الحامل** Carrier :

كمية من العنصر مخلوطة مع النظائر المشعة لهذا العنصر وهى كمية يمكن قياسها وتسهل العمليات الكيميائية وهى على غرار المركب القياسى الداخلى Internal Standard التى تضاف لعينات المبيد عند العمل بجهاز الكروماتوجرافى الغازى .

* **الخلفيــــة** Background :

تمثل العد المشاهد على وحدة القياس (العداد) بدون وجود عينة مشعة . تنشأ الخلفية عن اشعاع خارجى خلاف اشعاع العينة المشعة او قد تنتج من تلوث أنبوبة العداد وهى تماثل الخلفية التى يحدثها المذيب عند حقن العينة المذابة فى الكروماتوجرافى الغازى .

* **تشتت الاشعاع** Back Scattering :

يعنى انحراف الاشعاع بزوايا اكبر من ٩٠ ° بالنسبة لاتجاه حركة الاشعاع الاصلية . وتحديد هذا الحدوث يتطلب خبرة ومعرفة من القائم بعملية الكشف واستخدام النظائر المشعة .

* **الاضمحلال** Decay :

يعنى التناقص فى عدد الذرات المشعة فى العينة بمرور الوقت بسبب التحول التلقائى الذى يحدث لها وهى تختلف من ذرة لأخرى وقد سبق تعريفها بالتفصيل مع توضيح اهميتها .

* **الكورى** Curie **وحدة الاشعاع** :

تعنى كمية من الاشعاع يرمز لها بالحرف Ci تساوى ٣,٧ × $١٠^{١٠}$ ذرة تتحطم/ثانية أو ٢,٢٢ × $١٠^{١٢}$ ذرة تتحطم/دقيقة اى تساوى تقريبا نشاط جرام واحد من الراديوم .

المليكورى = ١/١٠٠٠ من الكورى

الميكروكورى = ١/١٠٠٠ من المليكورى

* **التحطيم النووى** Nuclear disintegration :

هو تحول نووى تلقائى يتميز بانبعاث طاقة من النواة وهو اساس وحدات الكورى ومرادفاتها .

* **معدل التحطم او الاضمحلال** :

يعنى معدل الاضمحلال الذى يحدث فى مادة مشعة ويعبر عنه بالكمية التى تتحطم فى وحدة الزمن .

* **كفاءة جهاز العد أو العداد** :

معيار للتأكد من مقدرة العداد على الاستجابة وتسجيل قيمة الاشعاع عند دخوله الى الكشاف Detector . وهذا يؤكد ضرورة قيام الباحث بملاحظة اية تغيرات فى وحدة القياس الاشعاعى حتى يتجنب اية استنتاجات مضللة او خاطئة من جراء عدم كفاءة العداد بسبب اى عطل او عدم اتمام المعايرة الجيدة .

* **معيار النهاية العظمى للطاقة** Maximum energy (Emax):

* **عداد الغاز** :

عبارة عن وحدة لقياس الاشعاع فى عينة مجهزة على صورة غازية وهو يوضع داخل انبوبة العداد الاصلى .

* **عداد انسياب الغاز** :

وحدة لعد الاشعاع يتوفر داخل الأنبوبة الخاص بها الجو الملائم من خلال امرار تيار بطئ من غاز مناسب داخل الانبوب .

* **نصف العمر البيولوجى** :

تعنى الوقت الذى يستغرقه الكائن الحى المعامل بالاشعاع للتخلص من نصف الكمية التى ادخلت اليه ويتم ذلك من خلال العمليات الحيوية المختلفة فى عضو أو نسيج او أكثر بشرط الا تكون الكمية التى تعرض لها ذات تأثير حاد قاتل .

نصف عمر النشاط الاشعاعى :

هو الوقت اللازم مروره من وقت المعاملة بكمية معينة من الاشعاع وحتى اضمحلال نصف الكمية الاولية او الابتدائية وهى تتوقف على العديد من العوامل الداخلية والخارجية .

* **النظير** Isotope :

احد النويدات nuclides العديدة التى لها نفس العدد من البروتونات فى النواة وهى بذلك تنتمى لنفس العنصر ولكنها تختلف فى عدد النيوترونات وللتوضيح نقول ان النويدة عبارة عن ذرة ذات تركيب خاص متميز فى النواة ومن ثم تكون نظائر نفس العنصر عبارة عن نويدات متميزة .

*** شعاع جاما** :

كما سبق القول فان شعاع جاما γ عبارة عن كم (كوانتم) من الاشعاع حيث ينبعث كل فوتون الذى يمثل الطاقة الضوئية نتيجة انتقال كمى بين مستويين للطاقة فى النواة . ولأشعة جاما طاقات تقع بين 10 Mev (مليون الكترون فولت) و 10 Kev مع ما يقابل ذلك من موجات ذات اطوال قصيرة جدا وذبذبات عالية وقدرة على الاختراق العميق نسبيا مثال ذلك (I_{131}) .

*** التحليل بتخفيف النظير المشع** :

تضاف كمية معلومة من المادة المشعة المعروف نشاطها الاشعاعى النووى Specific activity الى مخلوط يحتوى على هذه المادة بصورة غير مشعة ثم تعزل عينة نقية من المادة ولتكن مبيد أو أى مادة كيميائية اخرى ويقاس النشاط النوعى مرة اخرى كما فى المثال التوضيحى التالى :

$$WA = WA^* \left(\frac{CA^*}{C\,mix} - 1 \right) = 1^{mg} \left(\frac{100}{200} - 1 \right) = 4\ mg$$

WA= وزن المادة فى المخلوط (مجهول)

WA^*= وزن المادة النقية المشعة المضافة .

CA^* = النشاط الإشعاعى النوعى لوزنة معلومة من المادة النقية المشعة .

C mix = النشاط الإشعاعى النوعى لوزنة معلومة من المادة النقية المشعة + المادة النقية غير المشعة .

*** اصطلاح Mev** :

عبارة عن وحدة من الطاقة تستخدم فى العادة مع اشعاع الفا وبيتا وكذلك اشعة اكس وبالنسبة لأى اشعاع منها يشير الـ Mev العالى الى قدرة اختراق عالية .

*** الكشف عن النشاط الاشعاعى Monitoring** :

يعنى استكشاف وجود النشاط الاشعاعى بصفة دورية منتظمة أو متواصلة وهو يشمل تقدير كمية اشعاع التأين او التلوث بمواد مشعة فى منطقة تواجد المصانع المعنية أو القائمين بالعمل فى المفاعلات الذرية وغيرها وهذه تقع ضمن الاجراءات الأمنية بهدف حماية صحة الانسان . وهى تجرى كعمل روتينى فى الدول الصناعية الكبرى .

*** النشاط النوعى** :

تمثل الكمية الكلية للنشاط الاشعاعى لأحد النظائر فى جرام من النظير المشع وعادة يعبر عنها (dps/mg) .

* **الاشعاع** Radiation :

يعنى انبعاث ونشر الطاقة فى الفضاء او فى اى وسط مادى فى صورة موجات كما يحدث فى حالة انبعاث ونشر الموجات الكهرومغناطيسية .

* **النشاط الاشعاعى** Radio activity :

يعنى ظاهرة التحول التلقائى لنويدية ذات عمر يمكن قياسه (أو تعبير عن شدة الاشعاع المنبعث من عينة تمر بتحول نووى تلقائى ...) .

* **كيمياء المواد المشعة** Radio chemistry :

احد فروع علم الكيمياء ويختص بدراسة عناصر المواد المشعة والنظائر الخاصة بها وهى تفيد فى دراسات سلوك المبيدات فى الانظمة الحيوية المختلفة كالنباتات والحيوانات .... الخ .

* **المنتج النشط اشعاعيا** Parent radio active product :

نظير مشع ناتج عن تحلل decay نظير مشع اخر (الاصل) .

* **جرعة التعرض رونتجن** Roentgen (r) :

تعبر عن جرعة التعرض لأشعة اكس أو جاما ويصنع الرونتجن الواحد ٨٣,٨ ارج من الطاقة فى جرام واحد من الهواء الجاف تحت ظروف قياسية .

توجد وحدة قديمة تسمى rep وهى ياختصار للتعبير Roentgen equivalent

وهى تعنى وضع طاقة قدرها ٩٣ ارج فى جرام من نسيج لين . وهناك وحدة اخرى شائعة الاستخدام هى rad اختصارا Radiation absorbed dose وهى تعنى كمية الاشعاع التى تصنع ١٠٠ ارج لكل جرام من اى مادة (*).

* **راديو أوتوجراف** Radioautograph :

عند ملامسة المواد المشعة لفيلم او لوحة فوتوغرافية لفترة معينة تتكون بقع سوداء وهى تعرف بالمسجل الفوتوغرافى .

* **راديو جراف** Radiograph :

صورة ظلية A shadow picture ناتجة من مرور اشعة اكس او اشعة جاما خلال هدف معين وتسجل الاختلافات فى كثافة الاشعة المنبعثة على فيلم حساس او فوتوغرافى مناسب (يطلق على

العلم الذى يتناول دراسة الراديوجراف او الراديوجرام radiology والمضمون الشامل لهذا العلم يشمل دراسة النشاط الاشعاعى واشعة اكس والاشعة الكونية .

* **جـــاى Gy** :

تعبر عن جرعة التعرض لأشعة جاما وهى تساوى ١٠٠ راد .

١ كجم راد = ١٠ جراى (Gy)

* **الاخماد فى انبوبة العد Quenching in counting tube** :

عملية تثبيط التفريغ المستمر او المتعدد الشحنات الكهربية فى انبوبة العد التى تستخدم التكبير الغازى . وهذا ينطبق على إمتصاص ومضات الضوء (الوميض الفوسفورى) اثناء عملية قياس وميض السائل المشع .

* **الامتصاص الذاتى Self absorption** :

يعنى امتصاص الاشعاع الصادر من ذرات مشعة بواسطة الوسط المحتوى على هذه الذرات .

* **التأثير البيولوجى النسبى** :

يعنى كمية الطاقة الاشعاعية التى تنتج تأثيرا بيولوجيا متساوى الجرعة بالريم = الجرعة بالراد × التأثير البيولوجى النسبى . التأثير البيولوجى النسبى = واحد لأشعة اكس وجاما بينما يساوى ١٠ للبروتونات اما جسيمات الفا فيساوى ٢٠ .

* **الجرعة الوسطية القاتلة Median lethal dose (MLD)** :

هى جرعة الاشعاع اللازمة لقتل ٥٠ ٪ من افراد الحيوانات او الكائنات الحية التى تعرضت لها خلال فترة معينة .

* **الفترة القاتلة الوسطية Median lethal time (MLT)** :

هى الفترة اللازم مرورها حتى يموت ٥٠ ٪ من الكائنات الحية او الحيوانات التى تعرضت لجرعة محددة من الاشعاع .

ولقد اثرت ان اضع بين يدى القارئ الكريم اهم المصطلحات الخاصة بالاشعاع والنشاط الاشعاعى باللغة الانجليزية حتى اتجنب سوء الفهم أو سوء الترجمة .

T ERMS USED FOR RADIATION AND RADIOACTIVITY

Alpha (a) particle. A particle emitted from a few radioisotopes - eg., promethium147. It consists of two protons and two neutrons and is identical with the helium nucleus. It has extremely low penetrating power.

Beta (B) particle. A particle emitted from numerous radioisotopes - e.g., C14. It is an electron. Its penetrating power depends on its energy (which in turn depends on its source) and is usually low.

Curie (c). A quantity of radioactivity, measured by the number of disintegrations in a given time. One curie produces 2.22×10^{12} disintegrations per minute.

Gamma (γ) ray. An elelctromagnetic radiation emitted from certain radioisotopes - e.g., I131, A relaltively deeply penetrating emanation.

Kilovolt (kvp). The crest value of the electrical potential wave in a cathode ray tube used to generate x-rays.

Millicaurie (mc). One dthousandth of a curie.

Million election volts (Mev). A unit of energy commonly applied to α, β, γ, and χ radiations. For any given radiation, high Mev implies high penetration.

Rad. See "roentgen."

Rep. See "roentgen."

Roentgen (r). An exposure dose of χ or γ rays. One roentgen will deposit 83.8 ergs of energy in I g of dry air at standard conditions. As essentially equivelent unit, though now historical, is the rep. "roentgen equivalent physical", which is an energy deposition φ of 93 ergs in I g of soft tissue. Another unit, applied to all radiation is the rad. "radiation absorbed dose." The rad. by definition. is the amount of radiation which will deposit 100 ergs per gram in any material.

* * التشعيع واستخدام المواد المشعة Labeling and isotope methods :

يعبر عن نتائج الدراسات التى استخدمت فيها المواد المشعة بوحدات قياس العد فى الدقيقة أو وحدات التحطم الاشعاعى فى الدقيقة . disintegration per minute وقد سبق الاشارة الى كل منها وتوضع هذه الوحدات دون تفصيلات حتى يمكن للباحث أو المهتم بهذه الدراسات من تحويلها الى الوحدات المألوفة فى المبيدات والآثار الجانبية لها مثال جزء فى المليون ppm . فى هذا المقام نود الاشارة الى ان هناك مستويات ثلاثة للنشاط الاشعاعى جرى العرف على تحديدها على اساس ان المواد ذات النشاط الاشعاعى اقل من وحتى ١٠ مللليكورى تمثل المستوى المنخفض low . ومن ١٠ – ١٠٠ مللليكورى تمثل المستوى المتوسط intermediate والعالى ينحصر بين ١٠٠ – ٥٠٠ مللليكورى .

* ليكن معلوما ان معظم دراسات سلوك المبيدات فى المكونات البيئية المختلفة خاصة الحشرات والفئران والنباتات تستخدم كميات من المواد المشعة فى حدود ١ – ١٠ مللليكورى كما ان النظائر المشعة التى تستخدم فى بحوث المبيدات تكون من النوع الذى يصدر جسيمات بيتا مثل : H3 و C^{14} و CL^{36} و P^{32} .... الخ . وهناك مواد مشعة تصدر اشعة بيتا ذات طاقة منخفضة مثل CL^{36} و S^{35} و C^{14} وهذه يمكن تداولها بأمان نسبى معقول باستخدام صندوق مزود بكفوف وادوات زجاجية عادية . اما فى حالة استخدام مواد مشعة تصدر اشعة بيتا ذات طاقة عالية مثل P^{32} يجب استخدام ساتر بلاستيك يحيط بجهاز التجربة ذات سمك من ٠,٥ – ١ بوصة .

* فى هذا المقام سأتناول كيفية تشعيع احد المبيدات الفوسفورية حتى يمكن دراسة سلوكه فى الحشرات وغيرها من الكائنات الحية . لكل باحث طريقته التى يفضلها فى تحضير وتخليق المبيد المشعع بالرغم من ان الاساس واحد بسبب ان الفوسفور P^{32} ذو نصف فترة حياة قصيرة (١٤ يوم) ومن ثم يعتبر تخزينه مستحيلا لذلك كانت تكاليف تجهيز المبيد الفوسفورى المشعع عالية جدا . وعلى الجانب الآخر يحتاج الباحث الى كميات صغيرة جدا للدراسة حتى لا تقتل الحشرة وتستمر الدراسة . ففى حالة مركب الدايمثوات – على سبيل المثال – الذى له جرعة متوسطة قاتلة ٠,٤ ملليجرام/ كجم يحتاج الباحث الى ٢ ميكروجرام مبيد لكل ٥ جم ذباب واذا كان الهدف من الدراسة تتبع المبيد فى الانسجة المختلفة يمكن استخدام كميات اقل بكثير .

* بدأ تجهيز المبيدات الفوسفورية المشععة بالفوسفور P^{32} باستخدام الفوسفور الاحمر كمادة بداية حيث كانت الانشطة النسبية منخفضة ولذلك كانت دراسة سلوك المركب داخل الحشرة بهذا التحضير مستحيلة فى الحشرات . فى عام ١٩٥٨ قام العالم الكبير Casida بوصف طريقة على درجة عالية من الكفاءة وفيها تم تسخين مركب P_2S_5 مع المركب الرخيص ذو النشاط العالى $H_3p^{32}O_4$ فيحدث تبادل . وفى عام ١٩٥٨ كذلك قام الباحثان Uige and Tabeau

باجراء تفاعل تبادلى بين SCL_3 والمركبات المرتبطة به مع $H_3P^{32}O_4$. ولقد ادت هذه التفاعلات الى الحصول على مركبات ذات نشاط اشعاعى نسبى عالى وفى الغالب تعطى ٢٠,٠٠٠ وحدة/دقيقة لكل ميكروجرام باستخدام جهاز جيجر (عداد Geiger counter) ذات الكفاءة ١٥ ٪. ولقد مكنت هذه الطرق من تسهيل اجراء دراسات تتبع سلوك المبيدات داخل الحشرة .

حديثا اصبح استخدام المبيدات الفوسفورية المشععة بالنظير C^{14} مثار اهتمام البحاث ولكن بسبب دوام هذه التحضير حتى ٥٥٠٠ سنة اى مدة طويلة للغاية يكون من المستحيل الحصول على انشطة اشعاعية نسبية عالية . ان نشاط واحد مول من المادة الحاملة للكربون ١٤ أو الفوسفور ٣٢ تتناسب عكسيا مع نصف فترة الحياة لذلك يمكن القول أن P^{32} ذات نشاط اشعاعى نسبى يعادل ١٤٢,٠٠٠ مرة اعلى مما فى الكربون المشع C^{14} ولكن دوام كفاءة مستحضرات الكربون المشع تعتبر مناسبة كثيراً كما درست عمليات تمثيل مركب د د ف بى C^{14} عام ١٩٦٢ بواسطة العالمان Hodgson and Casida .

* لقد واكب نجاح تحضير المركبات الفوسفورية المشععة ادخال نظم قياس للاشعاع مناسبة وآمنة حيث يعتبر استخدام التريتيوم tritium الأمان والنشاط والتكلفة الاقتصادية . ولقد قدرت تكلفة التريتيوم فى H_2O_3 ١٤ سنت / ملليكورى فى مقابل ١,١ دولار امريكى مع $H3P^{32}O4$ أو ١٥ دولار امريكى لمركب $BaC^{14}O3$ (وهذه تعتبر من ارخص البادئات فى هذا السبيل) . يعتبر التيرتيوم ذو امان عالى جدا بسبب الضعف الشديد لأشعة بيتا المنبعثة وسرعة دخوله فى الجسم ويمكن لكمية واحد ميكروجرام فى الباراثيون المشع تعطى ٣,٧ × ١٠^٦ عدة/دقيقة فى العداد ذو الكفاءة ١٥ ٪ مع نصف فترة حياة ١٢,٥ سنة وهى فترة مناسبة الطول .

* فى عام ١٩٦٢ وصفت طريقة لتشعيع المركبات الفوسفورية بسهولة كبيرة وقلة فى التكاليف حيث استخدم H_2O_3 مع الـ P_2O_5 والـ BF_3 حيث يتم خلط هذه المكونات مع المركب المطلوب تشعيعه لمدة ٦ ساعات على درجة حرارة الغرفة . يحدث تبادل للايدروجين فى الكربون العطرى . وفى هذه الطريقة يقل معدل الانهيار عما يحدث فى طريقة Wilzbach حيث يستخدم التعريض لمادة حاملة خالية من التريتيوم والتى لا يمكن عملها فى المعامل العادية .

* لكى تكتمل الصورة امام القارئ نقول انه توجد طرق عديدة لتخليق المواد المشععة ومنها :

التخليق الكيميائى المباشر

التخليق بتبادل النظائر .

التخليق بطريقة معاودة الالتفاف

التخليق فى الحزم الجزيئية والايونية .

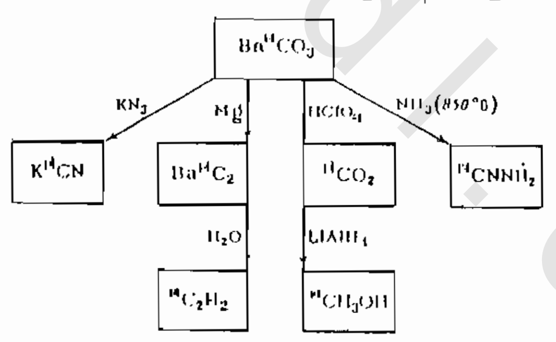
التخليق عن طريق تحطيم اشعة بيتا

التخليق الحيوى

* ومن اكثر الطرق شيوعا فى الصناعة التخليق الكيميائى المباشر والتخليق الحيوى وتبادل النظائر . تخليق المواد المشعة له ملامحه الخاصة ولا تصلح اى مادة كبداية ولكن المادة هى نفسها التى تنتج عند اتباع النظير المطلوب ادخاله فى المركب . كميات المواد التى تستعمل فى التخليق صغيرة ومن ثم تكون كمية النظير المشع الذى يدخل فى التفاعل محدودة كما ان التخفيف بمادة غير نشطة يلاقى اعتراضات بسبب نقص النشاط النوعى لناتج التفاعل . عند التخليق يجب ان يؤخذ فى الحسبان امكانية حدوث تحلل وانهيار للاشعاع فى المادة لدرجة قد تصل لاقل من محتواها الاصلى من الاشعاع . يجب ان تكون خطوات التحضير قصيرة بقدر الامكان كما يجب ان تجرى تحت ظروف تحقق الامان النسبى واذا امكن اجراء تجارب على البارد يكون افضل بدلا من تداول المواد المشعة .

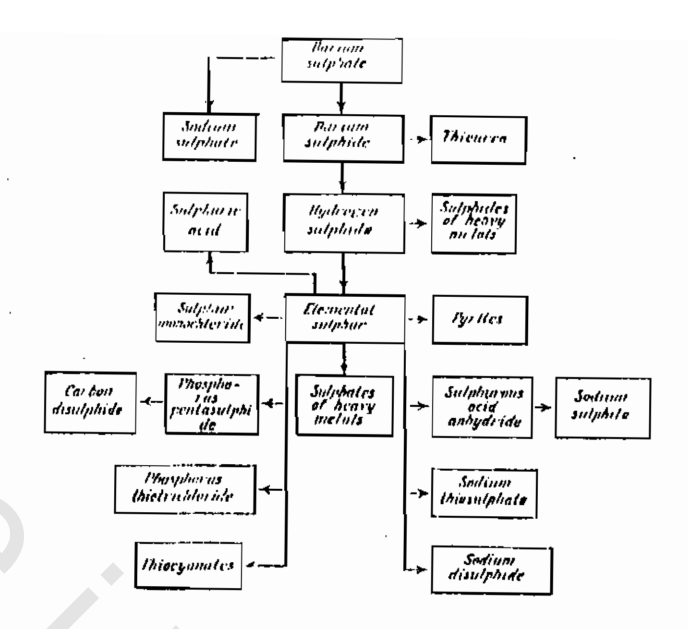
* ان تسمية المواد المشعة تعطى معلومات عن النظير الذى ادخل فى الجزئ وموقعه فيه . حامض الفوسفوريك الذى شعع بالفوسفور المشع P^{32} يسمى phosphoric acid P^{32} ويكتب رمزه البنائى $H_3P^{32}O_4$ ويوضع عدد الكتلة للذرة المعلمه فى قمة الجانب الايسر للرمز . اذا كان الجزئ يحتوى على اكثر من ذرة متماثلة يعكس اسم المركب ورمزه البنائى مكان التشعيع ومثال ذلك حامض البرونيوتيك $CH_3C^{14}H_2COOH$ وهكذا .

* المادة البادئة لتشعيع المركبات العضوية (المبيدات وغيرها) فى الموضع C^{14} هى كربونات الباريوم $Ba^{14}CO_3$ ومنها نحصل على خمسة مركبات اساسية تعتبر مفاتيح لتحضير المركبات العضوية كما فى الرسم التالى :



رسم تخطيطى لتخليق المركبات المعلمة بالكربون١٤ .

* المادة البادئة لتشعيع المركبات العضوية فى الكبريت ٣٥ هى الكبريت العنصرى أو حمض الكبريتيك المحتوى على S^{32} حيث يتحول حمض الكبريتيك S^{32} الى كبريتات الباريوم S^{32} والتى تختزل الى كبريتيد الباريوم S^{32} ومنه نحصل على الثيويوريا S^{32} كما فى الشكل التالى :

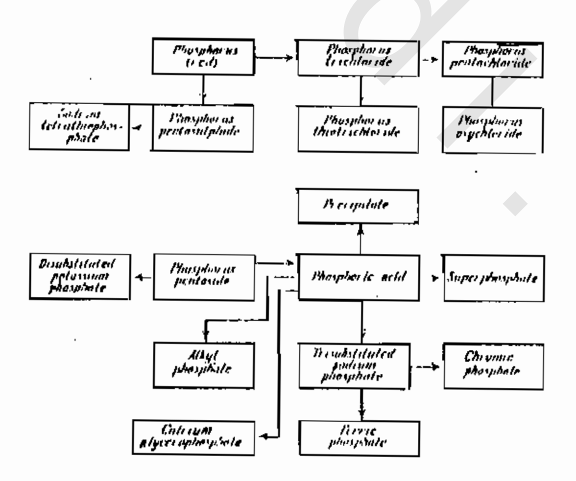


رسم تخطيطى للمركبات المتعلقة بالكبريت المشع كب٣٥ .

* هناك المركبات العضوية التى تشع فى موضع الهالوجينات كلور٣٦ ، بروم٨٢ ، يود١٣١ وهذه يمكن تحضيرها من خلال ادخال الهالوجينات Halogenation تحت ظروف معينة وبمساعدة الهالوجينات الجزيئية او الاحماض الهالوجينية :

$$C_6H_6 \xrightarrow{^{82}Br_2} C_6H_5Br^{82}$$

* المادة البادئة لتحضير المركبات الفوسفورية المشععة بالفوسفور – ٣٢ هى الفوسفور الاحمر المشع فى المفاعل الذرى . وقد امكن الحصول على العديد من المركبات كما فى الشكل التالى :



رسم تخطيطى لتخليق المركبات المعلمة بالفوسفور المشع فو٣٢.

* قد يتساءل البعض عن التخليق الحيوى biosynthesis للمركبات العضوية المشععة ونقول ان العديد من هذه المركبات المعقدة تنتج خلال التخليق الحيوى للمواد المشععة أصلا وهى تعتمد على تحول المواد المشععة الى مركبات طبيعية ومثال ذلك ما يحدث فى النباتات المعرضة لهواء به ثانى اكسيد كربون مشع حيث تقوم بتخليق الاحماض الامينية والكربوهيدرات المشععة فى ذرة الكربون ^{14}C . وتستخدم هذه الطرق حاليا فى الحصول على الاحماض الامينية المشععة بواسطة طحلب الكوريلا او بنجر السكر . ينتج فيتامين B_{12} المشع بالكوبالت C^{58} بمساعدة سلالة بكتريا حمض البروبيونيك فى المحلول المغذى المحتوى على الكوبالت المشع . التخليق الحيوى يعطى تشعيع متجانس على جميع ذرات العنصر المطلوب تشعيعه وهذا من العيوب الكبيرة ولكنه يتبع لانتاج مركبات ذات نشاط اشعاعى عالى . التخليق الحيوى للمركبات المحتوية على ذرات كربون غير متجانس يؤدى الى الحصول على الصورة L بينما التخليق الكيميائى المباشر يعطى مخلوط راسيمى .

* هناك تخليق مركبات مشععة فى التريتيوم Labeled وهو ينتج من تشعيع الليثيوم بالنيوترونات .

* يمكن الحصول على مركبات عضوية مشععة فى اكثر من موضع واحد على نفس الجزئ وهى تفيد فى دراسة سلوك المركب فى الاوساط البيئية المختلفة وهى تصلح فى حالة ما اذا كان محتوى النظير المشع فى المواد المشععة لا يقل عن ٥٠ - ١٠ ٪.

**** شروط انشاء معمل كيمياء مواد مشععة :**

* عند انشاء معمل كيمياء المواد المشععة يجب العمل منذ البداية على ضرورة تحقيق الامان لجميع العاملين فى المعمل وحمايتهم من الاشعاع وذلك من خلال التصميمات الهندسية المناسبة والدقيقة دون نسيان أى من العوامل المؤثرة وكذلك توفير وسائل الحماية من الاشعاع الذى قد يتسرب عرضيا وتوفير وسائل الانذار المبكر والا كانت العواقب وخيمة . ولا بد ان تختار نوعيات خاصة من العاملين يمتازوا بالجدية والاهتمام بالموضوعات والاخلاق الحميدة علاوة على المستوى العلمى المعين وعليهم ان يتلقوا دورات تدريبية بصفة منتظمة عن اخطار التعرض للاشعاع ، وكيفية وسبل الوقاية والحماية والعلاج .

* يجب ان يؤخذ فى الحسبان نوعان من الاشعاع عند انشاء معمل كيمياء المواد المشععة الأول الاشعاع الخارجى ولا سبيل لتقليل الضرر سوى تقليل فرص واحتمالات التعرض له حتى المستوى المسموح به وتفادى التعرض الزائد . والثانى يشمل الاشباع الداخلى حيث يمكن السيطرة عليه من خلال ترسيخ مفاهيم وأسس التدريب الجيد على العمل وحسن النظام والالتزام بقواعد الأمان عند تداول المواد المشععة بطرق تمنع دخولها للجسم عن طريق البلع أو الاستنشاق أو اية وسائل أو منافذ أخرى . لكى يمكن توفير الوقاية من أخطار الاشعاع يجب اتباع

التعليمات التالية :

١ – تحديد وتوصيف نوعية وكمية المواد المشعة المستعملة .

٢ – تحديد وضبط المسافة بين القائم بالعمل ومصدر الاشعاع بحيث تتفادى وصول اية كميات قد تحدث ضررا .

٣ – تحديد مدة التعرض التى لا يحدث معها أية أخطار .

٤ – ضرورة الكشف المستمر عن مستويات الاشعاع فى المعمل وكذلك فى القائمين بالعمل من خلال الاختيارات القياسية المتعارف عليها بشرط ان يقوم بهذا العمل أناس متخصصون .

٥ – التعامل مع المواد المشعة فى حيز محدود أى فى صناديق محكمة الغلق مزودة بقفازات خاصة منعا لتعرض الجلد .

٦ – التعامل مع المواد المشعة بواسطة أدوات خاصة للتداول تجعل فرصة تناثرها او سقوطها فى مكان التداول ضئيلة للغاية بل مستحيلة ضمانا للأمان .

٧ – نشر الخلايا الحساسة للكشف عن المواد المشعة وتحذير العاملون فى المعمل عن احتمالات التسرب قبلها بوقت كاف .

٨ – ضرورة توفير وسائل الاسعافات الاولية السريعة والمناسبة ولا تترك العملية للصدفة او الاحتمالات .

٩ – توفير وسائل التخلص من المواد المشعة باسلوب مدروس بحيث نضمن عدم تسرب هذه النفايات مرة اخرى من المعمل الى اماكن اخرى والدورات الارشادية ذات اهمية خاصة فى هذا المجال حيث ممنوع تماما القاء هذه النفايات فى البالوعات او الأحواض او المصارف الصحية أو الزراعية او فى الارض البور ... بل يجب معالجتها قبل خروجها من المعمل او جمعها فى أوانى خاصة عليها جميع التحذيرات وارسالها الى المعامل الخاصة بالمعالجة وتخليصها من المواد المشعة . اذا كانت المواد المشعة اقل من واحد ملليكورى يجب اتخاذ الاحتياطات صارمة فى هذا الشأن .

١٠ – يجب التقليل لحد كبير من احتمال بلع المواد المشعة من خلال العمل تحت ظروف مناسبة وخزانات غازات جيدة التهوية مع استخدام القفازات وأقنعة الوجه وتغطية الجسم بالملابس الواقية والأرجل لمنع تعرض اى جزء من اجزاء الجسم لهذه المواد المشعة او المشععة .

** تخزين المواد المشعة :

بادئ ذى بدء نقرر انه اذا لم يكن هناك داع للتخزين ولا ضرورة لذلك لا تخزن ولكن هناك فترة من وصول المواد المشعة للمعمل وحتى العمل بها تدخل تحت مسمى التخزين ونفس الشئ بالنسبة للنفايات وفى هذه الحالة يجهز وعاء رخيص على شكل اسطوانة مغطاة بالرصاص لمنع تسرب الاشعاع لتخزين المركبات المعلمة بالفوسفور المشع P^{32} اما المواد المشعة المحتوية على الكلور٣٦ أو الهيليوم ^{3}H أو الكربون١٤ يمكن تخزينها فى اوعية خاصة زجاجية داخل صناديق بلاستيك . بالنسبة للمحاليل ذات النشاط الاشعاعى الواطى يمكن تخزينها فى انابيب طرد مركزى مدرجة ووضع الانابيب فى حامل من الصلب الذى لا يصدأ له قاعدة من الرصاص لتقليل فرصة واحتمال انقلاب الحامل اثناء اخذ كميات من المحاليل بالماصة . لابد من تخزين اوعية الرصاص والحامل فى الثلاجة أو فى الصندوق المبطن بالرصاص مع مراعاة ثبات المركبات المشعة .

* عند تصدير عينة من المادة المشعة تتخذ احتياطات عالية الصرامة والدقة منعا لحدوث اى تسرب حيث توضع فى عبوة زجاجية محكمة الغلق وتوضع هذه العبوة فى صفيحة مملؤة بمادة السوبرسيل الماصة لأية مواد تتسرب بسبب قدرتها الادمصاصية العالية أو مادة الفيرميكيوليت وكلاهما يحمى العينة من الانقلاب وذات مقدرة على ادمصاص المواد المشعة فى حالة عسر العبوة الزجاجية . ولسنا فى مجال القول ان العينة المشحونة تكون مصحوبة بشهادات بها جميع التفصيلات عن المادة المشعة والمصدر واجراأات الأمان .

* * طرق اختيار المركبات المشععة :

من مميزات استخدام المركبات المشععة فى دراسات السلوك البيئى أن المادة المشعة لا تتأثر بالمادة الموجودة فيها من حيث اللون أو الحالة والصفات الطبيعية وكذلك المكونات الكيميائية والتى قد تتداخل مع طرق التقدير الاخرى كاللونية والكروماتوجرافية الغازية مما يستلزم اجراء عمليات التنظيف للعينات المحتوية عليها ومن ثم يقل معدل استرجاع المركبات من المادة المحتوية عليه وهذا غير وارد عند العمل بتكنيك الإشعاع بالاضافة الى الحساسية العالية جدا لهذه الطريقة والتى تصل الى اجزاء من البليون او اقل كثيرا .

* تقدم النظائر المشعة فى صورة مركبات كيميائية غير عضوية حيث تستخدم فى تجهيز المركبات العضوية المشعة والنظائر المشعة يجب الحصول عليها من مصدر موثوق ومعترف به دوليا ولكى يطمئن القارئ نقول ان مصادر هذه المواد الخطرة محدودة للغاية وان كان الوضع الحالى غير معروف بعد تفكك الاتحاد السوفييتى والدول الاشتراكية وحدوث حالات تسرب لا يعلم مداها الا الله سبحانه وتعالى لهذه المواد المشعة ووصولها الى دول لا تعى خطورتها . ومع هذا يظل المعمل القومى الامريكى ووكالة الطاقة الذرية من الهيئات المتخصصة الموثوق فيها .

* هناك العديد من العوامل التى يجب ان تؤخذ فى الاعتبار عند اختيار النظير المشع وتحديد موضعه فى الجزئ تحت الدراسة .. ومثال ذلك :

١ – التركيب الكيميائى للمركب .

٢ – سهولة الحصول على النظير المشع .

٣ – تكلفة النظير المشع .

٤ – نصف عمر النظير المشع .

٥ – سهولة قياس الاشعاع .

٦ – النشاط النوعى اللازم لاجراء التجربة .

لكى يتم اختيار النظير المشع المناسب يجب معرفة خواص اهم النظائر الشائعة الاستعمال والتى على اساسها نختار ما يناسب الدراسة المطلوب اجراؤها :

النظير المشع	نوع الاشعة	نصف فترة الحياة
Bromine - 82	أشعة بيتا وجاما	٣٥,٩ يوم
Carbon - 14	اشعة بيتا هادئة	٥,٥٧ × $١٠^{٣}$ سنة
Chlorine - 36	اشعة بيتا هادئة	٣,٠٨ ×م $١٠^{٥}$ سنة
Hydrogen - 3	اشعة بيتـــا	١٢,٤٦ سنة
Iodine - 131	اشعة جامـا	٨,٠٤ يوم
Phosphorus - 32	أشعة بيتا شديدة	١٤;٣ يوم
Suifur - 35	أشعة بيتا هادئة	٨٧,١ يوم

* يعتبر الكربون المشع ك١٤ النظير الاكثر شيوعا واستعمالا فى مجال دراسة سلوك المبيدات وتتبع آثاره فيما يعرف باقتفاء الأثر tracer experiment بسبب كونه اساس جميع المواد العضوية كما انه يحقق جميع الشروط السابق الإشارة اليها من سهولة الحصول عليه وتجهيزه ونصف فترة حياته المناسبة وسهولة الكشف عنه وتخزينه ... الخ . وهناك كثير من المعامل تفضل استخدام التريتيوم ^{3}H بسبب رخص التكلفة وسهولة ادخاله فى المركبات المراد تعليمها ودراسة سلوكها وكذلك الامان النسبى للتداول والتقدم الهائل الذى حدث فى اجهزة العد والكشف عن المواد المشععة .

* عند ادخال نظير مشع فى المبيد وهو ما يعرف بالتعليم او Labeling لا بد من الالمام بمدى صلاحية موضع الذرة المشعة فى الجزئ بما يتمشى مع هدف الدراسة . ونود التأكيد على حقيقة هامة تتمثل فى ان وجود الاشعاع فى النسيج او الوسط لا يعنى وجود المركب الكامل

ولكنه يعنى وجود الجزء المشع وهذا هام فى دراسة التمثيل او التحول للمركب وتحديد الجزء الفعال فى الجزئ والمسئول عن احداث الفعل السام Action على المكان او المستقبل المعين Receptor أو Site of action . لذلك كان لابد من اجراء اختبارات تأكيدية لتحديد المركب الموجود وهل هو ناتج تأكسدى او تحلل مائى او غيره من التحولات الكيميائية الحيوية او اللاحيوية ومن هذه الاختبارات التأكيدية استخدام كروماتوجرافى الالواح الرقيقة .

* من هذا المفهوم يجب إختبار الموضع أو الذرة المراد تعليمها بالاشعاع بحيث لا تهاجم بسهولة أو تفقد بسبب التحولات الحيوية أو البيوكيميائية فى الوسط . ولا بجانبنا الصواب اذا قلنا انه يمكن تشعيع معظم المجموعات الدالة فى الجزئ . ولقد اتفق على وضع الكربون المشع فى السلسلة الكربونية الاساسية او فى الحلقة العطرية من الجزئ بالرغم من صعوبة التحضير .

* بالرغم من التطور الكبير فى اجهزة القياس والعد والكشف عن الاشعاع فان كميات المبيد يجب الا تقل عن ٠,١ جزء فى المليون ومعظم الاجهزة تستطيع قياس اشعة قدره واحد ملليكورى/ملليمول واقل من ذلك يتحدد بحجم العينة وللتغلب على مشكلة التكلفة العالية للمركبات المشعة يفضل تحضير مواد مشعة رخيصة مثل الكربون المشع فى حامض البنزويك او فى خلات الصوديوم .

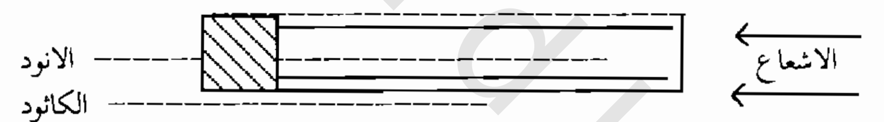
امان المبيدات المشععة :

بعد هذا الاستعراض أصبح القارئ مهيئا للحديث عن الأمان النسبى الموجود فى المبيدات المشععة وهنا نقول أنه يجب العناية الفائقة عن تداول المواد المشععة ليس فقط تلك التى لها قدرة ابنعاث اشعاعى قوية بل والضعيفة كذلك خاصة اذا كانت ذات نصف فترة حياة طويلة مثل الترينيوم والكربون – ١٤ والتى يمكن أن تدخل فى الجسم وبعد فترة طويلة قد تسبب أضراراً خطيرة . وهناك العديد من القواعد والتعليمات الى تتناول وتهتم بتداول والتخلص من النظائر المشعة وجميعها يجب فهمها جيدا والعمل بها . جميع الارفف فى المعامل يجب ان تغطى بمادة عازلة للماء حتى لا يحدث امتصاص للمواد المشعة فى الأخشاب المصنوعة منها كما يجب تغيير هذه الرفوف بصورة منتظمة . على كل من يتداول هذه المواد المشعة ان يرتدى الملابس الواقية والقفازات التى تستعمل مرة واحدة . يجب نقع جميع الاوانى والادوات الزجاجية الملوثة فى أوعيـــة خاصة قبل الغسيل وينصح فى العادة باستخدام اوعية يتخـــلص منها بما فيهـا من اثار بعد الغسيل .

يمكن الكشف عن الاشعاع بطرق مختلفة جميعها تعتمد على التأثيرات المباشرة أو غير المباشرة للتأين . والثلاثة طرق الاكثر شيوعا تتمثل فى تأين الغازات ionization واثارة السائل او المواد الصلبة Excitation وتحفيز التغير الكيميائى induction . يمكن قياس الاشعاع من خلال عد الإنبعاثات الفردية فى وحدة الزمن (القياسات المتباينة differential) أو التأثير المتراكم الكلى Cumulative لانبعاث فى زمن معين (integral) . بالنسبة للقياس الكمى للاشعاع يشيع الاعتماد على الطريقة الأولى بينما الثانية تستخدم فى قياسات dosimetry والراديوجرافى الذاتى Auto-radiography . بصرف النظر عن طريقة القياس والتسجيل للاشعاع يجب توفر اساس للعد او المقارنة أو خط الاساس blank وهى واجبة الاجراء ولابد من تصحيح قيم الانبعاثات على أساس هذه القيمة التى لا تمت للعينة المراد قياس الإشعاع فيها بصلة .. وفيما يلى وصف مختصر لأهم الاجهزة :

١٥ - عداد جايجر موللر Geiger - Muller Counter :

يمكن تقدير التأثير الايونى للاشعاع على الغاز اذا استخدم فرق الجهد عبر الكترودين موجودين فى الغاز . وهذا سيؤدى الى انجذاب الايونات المفصولة من التأين الى الآنود ومن ثم ينساب التيار بين الالكترودين من اكثر الكاشفات شيوعا ، فى هذا النوع من الاشعاع أنبوبة أو عداد جايجر — موللر والذى يتكون من غرفة اسطوانية معدنية (نحاس) هى الكاثود مع غطاء من الزجاج به سلك من التنجستين يمثل الآنود يمر على المحور المركزى للكاثود ويثبت فى نهاية الغرفة الاسطوانية بسدادة معزولة وتغطى النهاية الاخرى بغطاء من الميكا الرقيقة (الشكل — ١) .



شكل (١) : ابنوب جايجر — موللر .. تملأ الانبوبة بمخلوط من غاز متأين مثل النيون او الارجون والفولت المستخدم عبر الالكترودات . تأين الغاز بواسطة الاشعاع يحدث تيارا ينساب بين الالكترودات .

عادة يملأ الانبوب بالغاز وهو غالبا مخلوط من النيون والارجون تحت ضغط منخفض نسبيا . اذا كان الغاز احادى او ثنائى الذرة يطلق على العداد غير ذاتى الاخماد Nonself guenching اما اذا كان الغاز مكون على الاقل من ٤ ذرات يطلق على العداد ذاتى الاخماد Self guenching . اذا ملئت الاسطوانة بغاز غير ذاتى الاخماد مثل الهيليوم او الارجون فان النبض يكون ممتدا Prolonged أى يكون تفريغ الشحنات متصلا وتحت هذه الظروف لا يمكن عد العينة المشعة بطريقة مرضية ، اما اذا أضفنا الى الاسطوانة غاز ذاتى الاخماد مثل

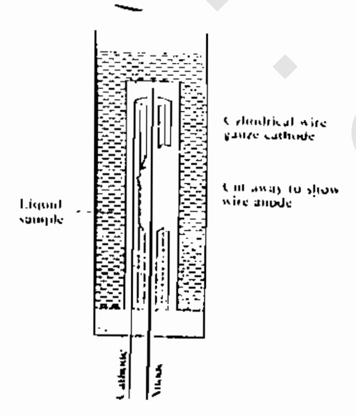
الايزوبيوتان فإنه يتأين ويكون طبقة رقيقة تغطى الكاثود وتوقف استمرارية تفريغ الشحنة (يضاف بنسبة ١,٣ ٪ مع الهيليوم) وكنتيجة لفعل الاخماد qutnching يمكن تسجيل كل حالة تأين كنبض فولت منفرد . يتوقف حجم نبض الفولت على فولت التشغيل فى اسطوانة العداد .

* يحدد فولت التشغيل المناسب بواسطة الشركة المنتجة للجهاز ومع هذا يجب التأكد منه وقياسه . فى البداية لا تسجل نبضات مع زيادة الفولت عن الصفر ولكن عندما يحدث فرق جهد مناسب potential يبدأ ارتفاع العد مع زيادة الفولت وتسمى هذه المنطقة بمنطقة التناسب proportional ويطلق على العداد الذى يعمل على هذه الظروف بالعداد التناسبى وعندما يزيد الفولت عن هذا الحد تظهر منطقة جديدة حيث يبقى معدل العد ثابتا نسبيا ومستقلا عن فولت التشغيل وهذه يطلق عليها منطقة عمل عداد جايجر – موللر . بعد منطقة جايجر – موللر يبدأ تفريغ الشحنات بصورة متصلة discharge فى اسطوانة العداد . ولا يحدث تغير فى العد الا بنسبة مئوية ضئيلة جدا مع زيادة الفولت لعدة مئات من المرات .

* قد تتأثر انبوبة أو اسطوانة العداد مع كثرة الاستعمال لذلك يجب اختبار البلاتو مع كثرة الاستعمال وعلى فترات منتظمة وينصح بعدم رفع فولت التشغيل الى منطقة التفريغ المتصل للشحنات حتى ولو فترة قصيرة حيث يقلل ذلك من عمر صلاحية العداد بدرجة كبيرة وقد يؤدى ذلك الى فقد العداد لقيمته وكفاءته .

* كما سبق القول أنه من احد مشاكل عداد جايجر – موللر أنه بمجرد الاطفاء تسبب الاشعة فوق البنفسجية المنبعثة تأين زائد للغازات (الاثارة الذاتية) ولذلك وجب اخمادها من خلال اضافة هالوجين مثل البرومين فى مخلوط الغاز خلال التصنيع . يقوم البرومين بامتصاص الطاقة الزائدة ومن ثم تنفصل الى ذراتها وهذه ترتبط مرة اخرى عند عدم تشغيل الجهاز وتشغل النظام مرة اخرى وهكذا .

* هناك عداد أو كشاف السوائل liquid detector (شكل – ٢) شائع فى عداد جايجر موللر ويصمم على اساس ان يغمس فى السائل او يحتوى على سائل كما فى الشكل التالى :



شكل (٢) : انبوب جايجر – موللر لقياس نشاط العينات السائلة .

* ٢ – غرف التأين :

جهاز متخصص محدود الاستعمال فى بحوث دراسات سلوك المبيدات فى الحيوانات او غيرها من الاوساط الحيوية بسبب الصعوبات فى القياس والعدد المحدود من العينات الى يمكن قياسها فى نفس اليوم . فى التجارب البيولوجية تستخدم غرفة التأين اساسا لتقدير ثانى اكسيد الكربون المشع الناتج من تنفس الحيوانات التى غذيت على مركبات مشعة أو نتيجة احتراق انسجة محتوية على مركبات بها كربون مشع (ك١٤) .

تتكون من غلاف اسطوانى موصل يتوسطه قطب كهربى (الكترود) معزول . وعندما يتعرض غاز الغرفة الى اشعاع يسبب تأين وينتج عن ذلك أزواج من الايونات حيث تتحرك الايونات السالبة منها للقطب الموجب (الانود) والموجبة ناحية القطب السالب (الكاثود) وبذلك ينشأ عن حركة الجسيمات المشحونة تيارا يمكن قياسه مباشرة او بعد تكبيره . قد يحدث تفريغ تلقائى للشحنات الخاصة بالايونات المتكونة فى غرفة الغاز نتيجة اتحاد الايونات ولو أنه من الناحية العملية لا يحدث الاتحاد بدرجة مؤثرة اذا توفر فرق جهد مقداره ١٠ فولت /سم على الاقل . ويقدر التيار فى غرفة الغاز عندئذ بعدد الايونات المتكونة فى الحجم الحساس من الغاز خلال وحدة الوقت .

* ٣ – عداد الحالة الغازية :

استخدمت طريقة العد فى الحالة الغازية على نطاق واسع فى الدراسات البيولوجية باستعمال التريتيوم بسب الحساسية العالية للطريقة وسهولة حرق المادة العضوية وتحويلها الى ثانى اكسيد الكربون وماء (وسهولة توليد غاز عد من الماء) والطريقة الاخرى الوحيدة المناسبة لعد المركبات المحتوية على الترينيوم هى تلك التى يستخدم فيها وميض السائل scintillation أو غرفة التأين .

* فى هذه الطريقة يتم ادخال المادة المشعة الى العداد كجزء متكامل مع غاز العد وهنا يكون الفقد فى الاشعاع بسبب الادمصاص مستبعدا حيث تقترب كفاءة العد من ١٠٠ ٪ . يمكن استعمال هذا العداد بكفاءة فى حالة الكربون المشع ك١٤ أو التريتيوم H^3 . يتكون العداد من انبوبة بيركس محتوية على كاثود اسطوانى وآنود من سلك رفيع والانبوبة مزودة بمحبس خاص يمر من خلاله الغاز المحتوى على المادة المشعة . بسبب وجود الشوائب ورداءة ك أ٢ كغاز للعد يخلط بغازات اخرى مناسبة معه مثل الميثان او ثانى كبيرتيد الكربون او بتحويله الى اسيتيلين يد ك = ك يد . يمكن عد التريتيوم اما على الصورة الغازية أو بعد تحويله الى تريتيوهيد وكربون مثل الميثان او البيوتان العادى .

* هذه الطريقة والعداد قريب جدا من عداد جايجر – موللر .

٤ – عداد الغمر :

يعتبر هذا العداد مناسبا لقياس والكشف عن المواد المشعة المنتجة لجسيمات بيتا ذات الطاقة العالية مثل الفوسفور ٣٢ والصوديوم٢٤ والبوتاسيوم ٤٢ لأن سمك زجاج العداد مناسبا (لا يقل

عن ٢٠ مللجم /سم٢ مما يجعل استعماله مناسبا وقاصرا على هذه الاشعة عالية الطاقة) من اهم مميزات هذا العداد انه يمكنه الكشف عن الاشعاع مباشرة فى العينات البيولوجية المهروسة لذلك نتفادى خطوات اعداد العينة وهى مفتتة ويمكن من حفظ العينات دون تغير فيها ومن ثم يمكن اجراء مزيد من الدراسات عليها .

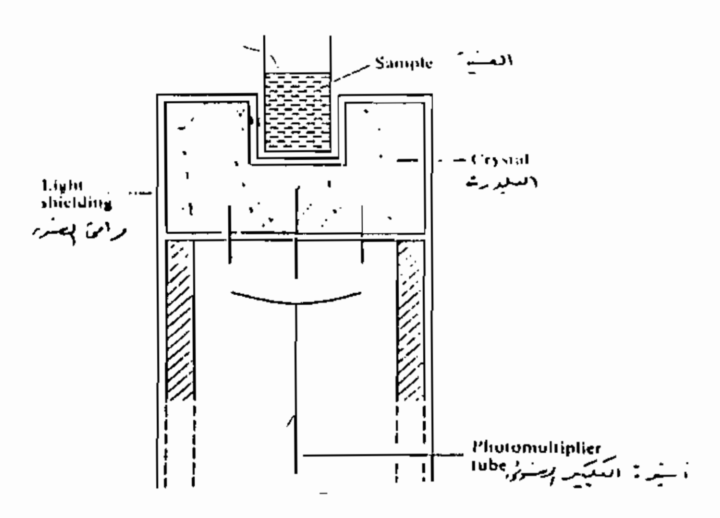
* هناك نوعان من عداد الغمر ... الأول يسمى بالعداد الغامر Dip Counter وهو عبارة عن عداد جايجر – موللر ولكن له انبوبة رقيقة الجدران والعداد يغمر مباشرة فى العينة السائلة من خلال الانبوب بشرط الا يقل سمك الطبقة المحيطة بأنبوب العداد عن ٢ – ٣ ملليمتر .

والنوع الثانى يسمى عداد الانسياب المستمر للسائل liquid flow وهو يتكون من انبوبة جايجر – موللر مركبة بصفة دائمة داخل انبوبة زجاجية مغلفة لها يوجد بها فتحتان الاولى لاستقبال السائل والاخرى لخرو جه . قد يملأ السائل المراد قياسه فى الأنبوبة من خلال ماصة او يمكن قياسه بطريقـــة متصلة اذا كان السائل متدفقا من العمود ويمر فى الانبوبة مباشرة لقياسه .

* ٥ – عداد وميض السائل :

بعض المواد المعروفة بالفلورز Flours أو منتجات الوميض Scintillants تستجيب للتأثيرات الايونية لجسيمات الفا أو بيتـــا من خلال انبعاث ومضات ضوئية (وميض Scintillations) بينما لا تستجيب هذه المواد مباشرة لأشعة جاما ولكنها تستجيب للتأثيرت الايونية الثانوية التى تنتجها اشعة جاما ومن ثم تقدم نظام للكشف لجميع الومضات . هناك مدي واسع من المواد المنتجة للوميض بعضها صمم لاحداث كفاءة قصوى مع نظائر مشعة خاصة . بللورات ايوديد الصوديوم تحتوى على كميات صغيرة من thullous iodide ذات كفاءة عالية للكشف عن اشـــعة جاما والاجهـزة التى تعمـل على هـذا الاسـاس تسـمى كاشـفات او عدادات جاما γ - Counter . توضع البللورة على قمـة مكبر ضـوئى Photomultiplier الذى يمكنه الكشف عن الومضات الضوئية وكلاهما يغطى بمادة مانعة للضوء والتى تكون رقيقة بدرجة كافية للسماح لأشعة جاما بالمرور فى البللورة كما فى الشكل التالى . عندما توضع العينة على البللورة فان نبضات التيار الناتجة بواسطة المكبر الضوئى يمكن عدها كهربيا .

اشعة بيتا الضعيفة او جسيمات الفا غالبا لا تستطيع النفاذ من المادة المغلفة للبللورة ولكن استعمال مواد منتجة للوميض مع العينة المراد الكشف عن محتواها الاشعاعى مذابة فى مذيب عضوى مناسب يمكن من استخدام هذه الطريقة .



شكل (٣) : عداد جاما . الومضات المنبعثة من البللورة والمتسبب عن اشعة جاما يقاس بواسطة المكبر الضوئى .

* يعتمد عد وميض السائل المحتوى على مواد منتجة لجسيمات بيتا واطية الطاقة على قدرة بعض المواد العضوية مثل PPO أو POPOP على بعث فوتونات عند اثارتها بالاشعاع . تقوم لمبة المكبر الضوئى بكشف الفوتونات (الضوء) الناتجة واستخدام التأثير الكهربى الناتج من الضوء لاعطاء نبض او اشارة كهربية يمكن تكبيرها وتسجيلها . فى هذه الطريقة تذاب العينة فى سائل عضوى معين او نظام عضوى بحيث يكون المحلول الناتج شفافا . وتحت هذه الظروف فان الفوتونات الناتجة من اثارة جسيمات بيتا للسائل العضوى لا تمتص فى الوسط ومن ثم يمكن الحصول على

(PPO)

شكل (٤) : المواد المنتجة للوميض Scintillants

اقصى تأثير كهربى ناتج عن ضوء الفوتونات . يمكن خفض كمية الخلفية المرتفعة والناشئة عن الضجيج الناتج عن مكبر الضوء بوضع لمبات مكبر الضوء فى غرفة منخفضة الحرارة فتقل الومضات الحرارية الايونية Thermoionic واستعمال زوج من لمبات مكبر الضوء فى توافق .

* من اهم المشاكل اذابة العينة فى محلول السائل العضوى حيث ان معظم محاليل الوميض تحتوى على تركيزات كبيرة من المذيبات الغير قطبية مما يحد من كمية المحلول المائى الذى يمكن ضخه اليها . ويمكن القول أن معظم النظم من السوائل العضوية حساسة بصفة عامة للاحماض والقواعد وبعض المحاليل الملونة خاصة اللون الاحمر والاصفر كما ان معظم العينات البيولوجية ذات محتوى عالى من الماء وفى حالات كثيرة تحتوى على كاروتينات وصبغات الدم مما يسبب تداخلا فى عملية العد . واذا تم حرق العينة وتحويلها الى ثانى اكسيد الكربون والماء تقابلنا مشكلة مسك ثانى اكسيد الكربون المشع فى الوسط السائل الذى يمكن عده .

* تذاب معظم العينات المنتجة للوميض فى المذيبات العضوية المناسبة مثل التولوين والزيلين (فى حالة العينات العضوية) بينما يستخدم الديوكسين فى حالة العينات المائية . يقاس عدد الايونات او الومضات الكترونيا ويعبر عنها بعدد الومضات فى الدقيقة . وهناك أجهزة تسمح بقياس احد النظائر المشعة فى وجود نظير اخر تحت ظروف معينة .

*** ٦ - القياس الذاتى للاشعاع Autoradiography :**

الاشعاع المتأين له نفس التأثير الذى يحدثه الضوء على الفيلم الحساس وترتبط درجة اسوداد الفيلم مع شدة الاشعاع . يفيد القياس الذاتى للاشعاع فى تحديد موضع النظائر المشعة فى الانسجة أو الكرماتوجرام كما فى الصورة التالية وهى طريقة غاية فى البساطة لا تتطلب اجهزة معقدة لا تختلف عما هى الحال فى امكانيات التصوير الضوئى العادى . توضع العينة على فيلم فوتوغرافى يحمى من الضوء ويبقى فى تلامس طويل لمدة كافية للتعريض المناسب . تتوقف فترة التعريض على شدة الاشعاع وتقدر من خلال التجربة والخطأ ويجب ان يؤخذ فى الاعتبار ان التكنيك يتطلب انبعاث جسيمات بيتا $١٠^{-٧}$ لكل سنتيمتر مربع .



شكل (٥) : القياس الذاتى للإشعاع فى ورقة بإستخدام الكالسيوم ٤٥

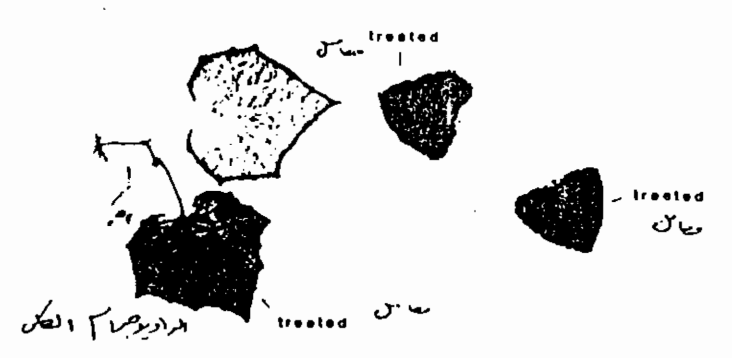
*** ٧ - كشف الاشعاع على شرائح الكروماتوجرافى الورقى :**

تمرر الشريحة الورقية تحت كاشفات للاشعاع او بين كاشفين للاشعاع وتسجل البيانات فى صورة منحنيات تتفاوت فى مساحتها حسب كمية المادة المشعة على الكروماتوجرام وهناك اجهزة تستطيع تسجيل المساحات المحتوية بقعا مشعة على الكروماتوجرام ذو الاتجاهين وتصبح قيمة العد بالارقام على ورقة لها نفس حجم ورقة الكروماتوجرام بينما لا يظهر عد الخلفية على الورقة وتكون ارقام البقع عالية الاشعاع باللون الاحمر بينما تظهر ارقام البقع متوسطة الاشعاع باللون الاسود .

* والرسم التالى يوضح تواجد المبيدات المشععة فى اوراق نبات الخيار والفاصوليا بعد ١٢ ، ١٤ يوم من المعاملة على التوالى :

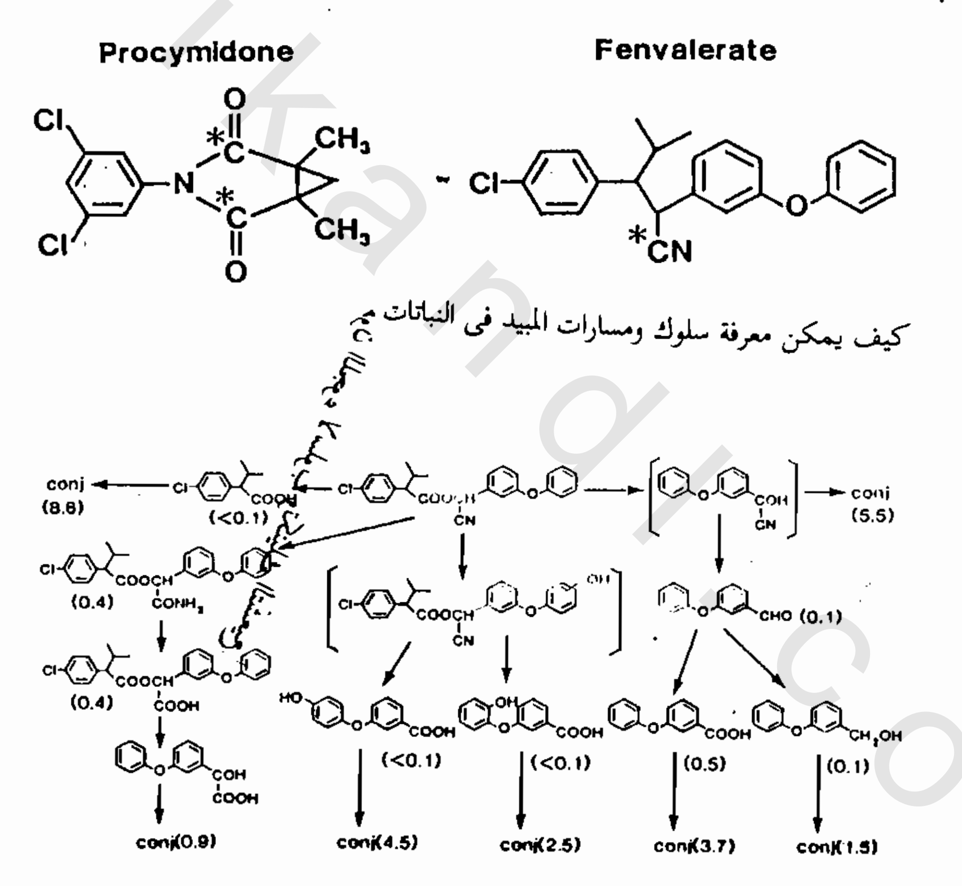
(أ) خيار معامل بالبروسيميدون بعد ١٢ يوم من المعاملة .

(ب) فاصوليا معاملة بالفينفاليرات بعد ١٤ يوم من المعاملة .



WHOLE-BODY AUTORADIOGRAMS

والشكل التالى يوضح اماكن تشعيع مبيد الفينفاليرات والبروسيميدون لدراسة سلوكهما فى النباتات .



كيف يمكن معرفة سلوك ومسارات المبيد فى النباتات

الشكل التالى يوضح مواضع مهاجمة مبيدات البيرثرويدات فى النباتات .

الشكل التالى يوضح مخلفات مبيدات البيرثرويدز فى أو على نباتات القطن بعد المعاملة بسبعة ايام .

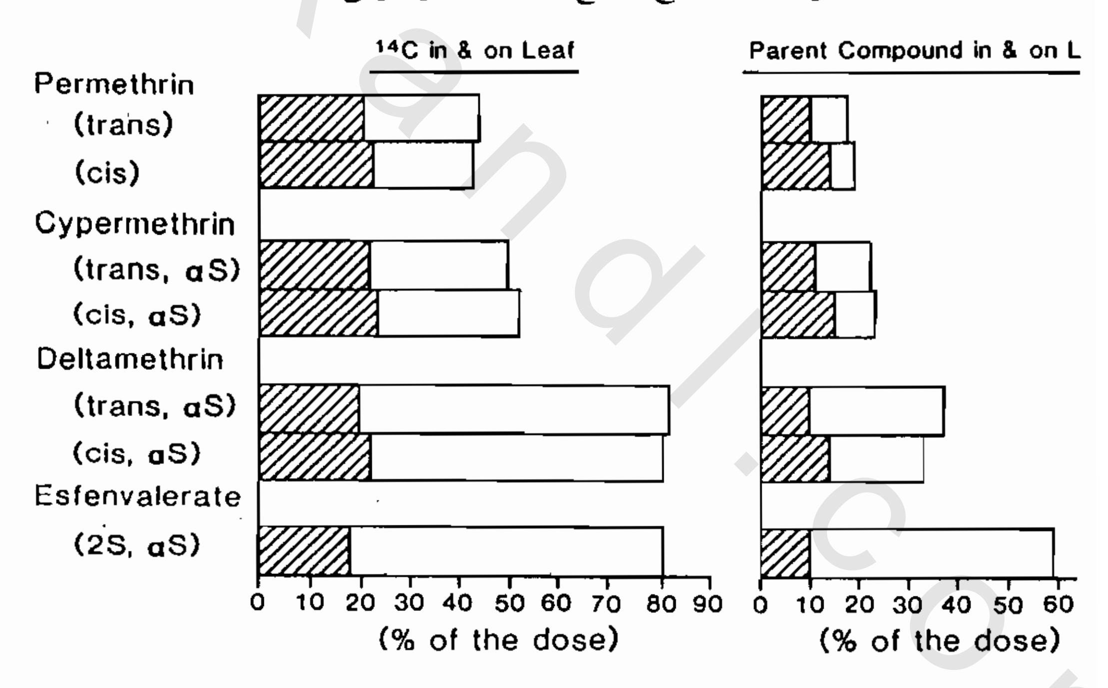
(1RS, trans)-Permethrin
(1RS, cis)-Permethrin

(1R, cis, αS)-Deltamethrin

(αRS)-Fenpropathrin

(2RS, αRS)-Fenvalerate

شكل ( ) : يوضح مواضع مهاجمة البيرثرويدر فى النباتات



شكل يوضح مخلفات مبيدات البيرثربودز فى أو على نباتات القطن بعد المعاملة بسبعة أيام

الفصل السادس عشر

– الطرق الانزيمية لتقدير مبيدات الآفات Enzymatic methods .

* مقدمـــــــة .

* حركية تثبيط انزيم الكولين إستريز

* فعل انزيمات الكولين استريز Action of cholinesterases

أ – تقسيم الانزيمات Classification of enzymes

ب – تقنية الفعل Mechanism of Action

* طرق قياس نشاط كولين استريز Methods of measuring chloinesterase activity

أ – طريقة قياس الجهد Potentiometric method .

ب – طريقة المعايرة أو التنقيط Titrimetric method .

جـ – الطريقة المانومترية Manometric method

د – الطرق اللونية Colorimetric methods .

* استخدام تثبيط الكولين إستريز فى تحليل مخلفات المبيدات

Application of cholinesterase inhibition to residue analysis

أ – الاستخلاص والتنقية Extraction and purification

ب – مميزات طريقة الكولين استريز Advantages

جـ – وصف مختصر لبعض الطرق المتخصصة Specific methods

١ – طرق قياس فرق الجهد Δ pti

٢ – الطريقة اللونية Colorimetric method

* قائمة المراجع



الطرق الانزيمية لتقدير مبيدات الآفات

** مقدمـــــــة :

المركبات الفوسفورية العضوية مجموعة من الكيميائيات التى ثبت فعاليتها ضد الحشرات وقد اكتشفت نتيجة للبحوث الرهيبة فى المانيا خلال الحرب العالمية الثانية للحصول على كيميائيات تصلح للحرب الكيميائية . وقد امكن تقييم هذه المبيدات كاسترات حمض الفوسفوريك او مشتقاته . تتميز هذه المركبات بصفة متميزة تتمثل فى مقدرتها على تثبيط نشاط مجموعة من الانزيمات التى تشترك فى تحليل استرات الكولين . حيث ان هذه الانزيمات توجد بشكل واسع فى الحشرات والثدييات فان المبيدات الحشرية الفوسفورية العضوية تحدث سمية عالية على الثدييات ومن ثم طورت طرق حساسة لتحليل مخلفات هذه المبيدات بالطرق الانزيمية بناء على مقدرة هذه المركبات على تثبيط نشاط انزيم الاسيتايل كولين استريز ... وسوف نتناول هذه الطريقة كمثال :

** حركية نشاط الكولين استريز :

يساعد انزيم الكولين استريز على تحليل الاسيتايل كولين كما فى المعادلة

اسيتايل كولين + ماء --- انزيم ----← الكولين + حامض الخليك

هذا التفاعل يمكن تمثيله بالمعادلات التالى :

الانزيم الحر Ei + الوسيط الكيميائى $S \underset{K_2}{\overset{K_1}{\rightleftharpoons}} Es \longrightarrow Ei + P_1 + P_2$ .... (١)

حيث Es تمثل معقد الانزيم والوسيط الكيميائى والتى تتكسر وتنتج الانزيم الحر مرة اخرى ونواتج التحلل P_1 و P_2 . يعبر عن معدل التكسير للوسيط الكيميائى بالنشاط الانزيمى . وهذا النشاط يتناسب طرديا مع تركيز المعقد ds / dt . والمعادلة التالية تمثل معدل تفاعل الوسيط

$$\frac{-ds}{dt} = \left[-\frac{ds}{dt} \right] \max \left[\frac{k_2}{s} + 1 \right] \qquad (٢)$$

حيث ان ثابت مايكل للانزيم Michaelis Constant والمعبر عنها Ks تساوى $K_{2'} + K_{2''}/K_1$ ومعدل التفاعل يساوى (-ds/dt) max عندما يكون الانزيم كله فى الصورة Es . وهذا هو مقياس النشاط الانزيمى . عندما يظل تركيز الوسيط الكيميائي ثابتا خلال مدة التفاعل تكون قيمة ds/dt ثابتة لقيمة معينة من الوسيط S ومن ثم يمكن استخدامها لقياس النشاط الانزيمى . هذه الظروف مطلوبة فى حالة ما اذا كان النشاط الانزيمى سيقاس بمعدل ظهور نواتج التحلل بناء على مصدر الانزيم فان ثابت مايكل يكون عادة فى المدى ١٠$^{-٣}$ – ١٠$^{-٤}$ مول/لتر . ومن ثم يجب الا يقل تركيز الوسط عن ٢ × ١٠–٣ مول . يجب تحاشى زيادة تركيز الوسيط الكيميائى لأن زيادته تسبب فعل تثبيطى على الانزيم نفسه .

* عند قياس النشاط الانزيمى بتقدير اختفاء الوسيط يصبح من المستحيل استخدام زيادة من الوسيط ولا تظل القيمة ds/ dt ثابتة . فى الظروف التى عندها So و S تمثل تركيز الوسيط فى البداية والنهاية ، t تمثل وقت التفاعل الانزيمى يمكن الحصول على المعادلة التالية بتكامل المعادلة السابقة (٢) :

$$K\ s\ loge \frac{S}{So} - So + S = t\ (\frac{-ds}{dt})\ max$$

يعبر عن النشاط الانزيمى ds/dt - وهذه القيمة ليست وظيفة بسيطة لقيم t و S و So ويتطلب قياس النشاط الانزيمى بهذه الطريقة مع التغير فى تركيز المادة الوسيطة ، ΔS عندما تكون So والوقت t ثابتة . يجب الا ينخفض تركيز الوسيط الكيميائى لاكثر من ٥٠ ٪ من قيمته الاصلية لانه اذا حدث الى اقل من ذلك فان الخط بين النشاط والوقت سيخرج عن العلاقة الخطية .

** حركية تثبيط الكولين استريز :

* تبعا لدراسات Aldridge (١٩٥٣) وبحوث Casida (١٩٥٦) فان التفاعل الذى يحدث بين معظم المبيدات الفوسفورية العضوية والكولين استريز يتمثل فى تكوين معقد غير ثابت الذى يتفرق (٥) وينتج عدة مركبات بالاضافة الى الانزيم المفسفر . ان فسفرة الانزيم تسد الموقع الاستراتى النشط . ان عملية التحلل المائى للانزيم المفسفر (معادلة ٦) عملية بطيئة ومن ثم يكون التثبيط بالمبيدات الفوسفورية غير عكسى irreversible . تعتمد التعاكسية على مقاومة الانزيم المفسفر للتحلل المائى . التفاعلات ٤ ، ٥ عكسية بينما التفاعلات ٥ ، ٦ غير عكسية .

معقد الانزيم والمثبط EI = (المثبط) I + (الانزيم الحر) E .... (٤)

نواتج التحلل للمثبط V + الانزيم المفسفر EP ←-- معقد الانزيم المثبط EI (٥)

مشتق حامض الفوسفوريك P + انزيم حر E ←--- الانزيم المفسفر EP (٦)

$$P_2 = K_2\ (EP)$$

بعد اضافة الوسيط الكيميائى فان الانزيم المفسفر EP يصبح غير فعال . معقد الانزيم والمثبط EI يتفرق ويصبح الانزيم قابلا للارتباط مع الوسيط ويتبع ذلك الانحلال المائى .. (٧)

$$EI + S \longrightarrow ES + I$$

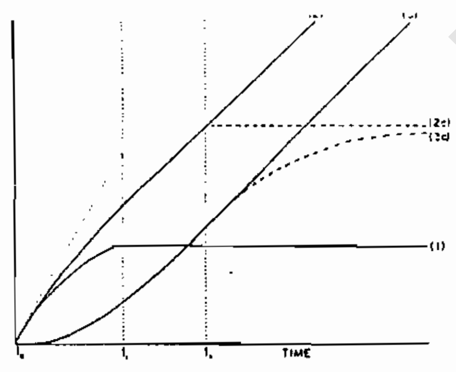
كمية الانزيم النشط Eact تحسب من المعادلة :

$$Eact = E + EI$$

* عندما يكون EP ثابتا ($K_2 = O$) تعتمد قيمة التثبيط على النسبة بين الانزيم وتركيز المثبط الموجود اساسا فى مخلوط التفاعل . قيمة التثبيط النصفى I_{50} (تركيز المثبط الذى يحدث ٥٠ ٪ تثبيط لنشاط الانزيم) وهى من الناحية النظرية تساوى نصف تركيز الانزيم . تتناسب قيمة التثبيط طرديا مع تركيزات المثبطات مع فرض ان فترة التحضين (الوقت المتاح للتفاعل بين الانزيم والمثبط قبل اضافة الوسيط الكيميائى) تكون طويلة بما فيه الكفاية . يحدث التفاعل تبعا لحركية التفاعل من الدرجة الثانية . عندما يتحلل الانزيم المفسفر EP بمعدل اعتبارى يصل التثبيط لمستوى ثابت عندما يحدث التفاعل (٥) و (٦) بنفس السرعة مع فرض ان المثبط (I) اكبر من الانزيم (E) .

* لقد وصف Van Asperen and Dekhuizen عام ١٩٥٨ تصور لنظام التفاعل فى حالة التثبيط البطئ العكسى . الشكل (١) فيه المنحنى (٢) يمثل كمية الانزيم التى حدث لها فسفرة . المنحنى (٣) يمثل كمية الانزيم التى فقدت الفسفرة . المسافة الرأسية بين المنحنين تمثل كمية الانزيم المفسفر (EP) الموجود فى اى وقت . نظام التثبيط الذى يختبر تجريبيا يمثل المنحنى (١) وهذا المنحنى يوضح العلاقة بين كميات الانزيمات المفسفرة (المسافة الرأسية بين المنحنيات ٢ ، ٣) مع الوقت . انحدار المنحنى (٢) يتناسب طرديا مع كمية الانزيم الغير مفسفر ويتناقص مع الوقت . انحدار المنحنى (٣) يتناسب طرديا مع كمية الانزيمات المفسفرة وتزداد مع الوقت . عند الوقت t_1 يصل الاتزان والانحدارات تكون متساوية . عندما يصل التفاعل للاتزان يضاف الوسيط الكيميائى (الاسيتايل كولين) عند وقت t_2 فى الشكل ، يقف التفاعل (٥) ويظهر المنحنى (٢) افقيا (2a) . التفاعل (٦) يمثل بالمنحنى (٣) ويستمر بسرعة متناقصة (3a) . عند الوقت t_1 يكون النشاط التجزيئى ما لا نهاية ∝ والانحدار Sa للمنحنى (٢) عند الوقت t_0 والانحدار S_1 للمنحنيات ٢ ، ٣ عند الوقت t_1 ترتبط بالعلاقات التالية :

فى الشكل ∝ اخذت عند القيمة ٠,٥ عند قياس النشاط البيولوجى باستخدام الكولين استريز تحت ظروف متحكم فيها فان درجة التثبيط لهذا التفاعل بواسطة المثبط تصبح قياسا لكمية المثبط الموجود .



شكل (١) : رسم تخطيطى لتفاعل التثبيط البطئ العكسى للكولين استريز .

** فعل انزيمات الكولين استريز

*. أ - تقسيم الانزيمات

لقد اقترح Augustinsson عام ١٩٥٧ تقسيم انزيمات الكولين استريز فى مجموعتان على النحو التالى : (١) الانزيمات التى يثبط نشاطها مع زيادة الوسيط الكيميائى وتشمل هذه المجموعة الانزيمات التى تعزل من الجهاز العصبى وكرات الدم . يحدث النشاط الاقصى عندما يكون تركيز الوسيط الكيميائى ٣ × ١٠$^{-٣}$ مولر . وتتضمن هذه المجموعة كذلك الانزيمات التى يتبع نشاطها معادلة ميخائيل منتن وفيها يحدث النشاط الاقصى عند تركيز ضئيل للغاية من الوسيط الكيميائى وهى تشمل كولين استريز سيرم الدم .

* تشمل الاستريزات جميع الانزيمات التى تساعد على التحلل المائى لاسترات حمض الكربوكسيليك . هذه الانزيمات شائعة الانتشار فى الطبيعة وتتميز بالعديد من الصفات التى تعتبر كأساس للتقسيم . درجة الحموضة المناسبة لمعظم الاسترازات من المصادر الثديية من ٧,٥ الى ٨,٥ بينما الاسيتايل استريزيس من المصادر الاخرى مثل ثمار الموالح لها حموضة مناسبة من ٥,٥ - ٦,٥ . ان وجود الكولين استريز لتحت مجموعة للاستريزيس اقترحت فى البداية بواسطة الباحث Dule (١٩٤٤) الذى وصف هذه الانزيمات على انها متخصصة لتحليل الاسيتايل كولين .

* لقد اصبح من الواضح ان خصوصية الوسيط الكيميائى لهذه الانزيمات ذات قيمة مطلقة بلا معنى . فى الحقيقة وجدت بعض من هذه الانزيمات قادرة على تحليل الاسترات اللاكولينية بمعدل واضح . وكذلك اوضحت الدراسات البيوكيميائية انه بالرغم من اختلاف الاسترازات البسيطة والكولين استريز عن بعضهما البعض من عدة وجوه الا ان هناك تداخل فى صفاتهم مما يصعب من وضع حدود فاصلة بين هذه المجموعتين . لقد تم حل هذه المشكلة عندما اقترح Richter and Croft عام ١٩٤٢ ان الانزيمات تقسم الى الكولين استرازات المتخصصة والغير متخصصة وليست استرازات بسيطة ويحدث لها تثبيط كلى عند تركيز ١٠$^{-٥}$ مولر ايزيرين بصرف النظر عن الوسيط الكيميائى المستعمل . ان مجموعة الكولين استريز (الحساسة للايزيرين) يمكن ان تقسم الى مجموعتان الاولى تسمى الكولين استريز الحقيقى او المتخصص او E - type والثانية الكولين استريز الكاذب او الغير متخصص أو S - type . لقد حاول العديد من البحاث فى مجال الكيمياء الحيوية التفرقة بين انواع الكولين استريز على اساس الوسيط الكيميائى والمثبط باستخدام المبيدات الفوسفورية العضوية او قواعد الامونيوم الرباعية أو مشتقات البروكايين وغيرها من المواد ومع هذا لم يتمكنوا من وضع حدود فاصلة بين هذه المجاميع .

* **المجموعة الاولى** .. انزيمات الكولين استريز المتخصصة Specific تستخدم المواد الوسيطة اسيتايل كولين ، اسيتايل - بيتا - ميثيل كولين ، بيوتريل كولين (ليست على صورة نشطة) ولا يستخدم البنزويل كولين . توجد هذه الانزيمات فى تركيزات عالية فى الانسجة العصبية

للفقاريات واللافقاريات . توجد استريز مخ الحمام بمستوى اكبر ٤ مرات من الموجود فى مخ الثدييات وهو من المجموعة الاولى . توجد كولين استريز هذه المجموعة بمستويات منخفضة فى الانسجة العضلية من اكبر المصادر الغنية للكولين استريز . المجموعة الاولى الاعضاء الكهربية فى السمك الرعاش . انزيم المجموعة الاولى فى الدم يتركز فى كرات الدم كما وجد فى سم الكوبر ا ولكنها تختلف فى الفعل المتخصص وقد وجدت هذه المجموعة فى سيرم الارانب بالاضافة الى استريز اخر لا يتأثر بالمبيدات الفوسفورية العضوية .

يوجد كولين استريز دم البقر المنقى (مجموعة ١) تجاريا فى عبوات يحتوى كل منها ٢٠,٠٠٠ وحدة وهى تعنى كمية الانزيم التى تتحرر واحد ملليلتر مكعب من ثانى اكسيد الكربون لكل دقيقة فى المحلول المنظم رينجر بيكربونات المتوازن مع ٥ ٪ ثانى اكسيد كربون فى النتروجين على درجة حرارة ٣٧,٥° م بتركيز ابتدائى من الاسيتايل كولين ٠,٠٠٩٢ مولر . الكولين استريز فى الحبل العصبى للصرصور الأمريكى ونحل العسل يحطم الاسيتايل بيتا ميثيل كولين اسرع من الاسيتايل كولين على تركيز عالى من الوسيط الكيميائى وتحدث ببطء عند تركيز وسيط قليل . كولين استريز مخ الذباب يحلل الاسيتايل كولين اسرع عند جميع التركيزات ومن ثم يعتبر كولين استريز متخصص (مجموعة – ١) . من البسلة يحتوى كولين استريز يحلل الأسيتايل كولين والبنزويل كولين وليس اسيتايل – بيتا – ميثيل كولين (Fukuto – ١٩٥٧) . كولين استريز مخ الذباب يحلل ٢ جم أسيتايل كولين لكل جرام نسيج لكل ساعة وهى اعلى بمقدار ٥٠ – ١٠٠ مرة من انزيم مخ الثدييات وتساوى تقريبا لنشاط كولين استريز العضو الكهربى لسمك الرعاش E. electricys . ان مواصفات كولين استريز المجموعة الاولى الموجودة فى مخ الذباب ونحل العسل والفئران متماثلة جدا حيث ان ثوابت ميخائيل تساوى ١,٧٥ × $١٠^{-٣}$ ، ١,٩٥ × $١٠^{-٣}$ ، ٢,٥٨ × ١٠–٣ على التوالى .

* **المجموعة الثانية** ... انزيمات كولين استريز هذه المجموعة ذات قابلية عالية للبيوتريل كولين عنه فى حالة الاسيتايل كولين . لا يتحلل الاسيتايل ميثيل كولين بينما يتحلل البنزويل كولين . تقع انزيمات هذه المجموعة فى بلازما معظم الحيوانات . تحتوى بلازما الحصان والانسان على الكولين استريز من المجموعة الثانية وغيرها من الالليستريز .

* ب – تقنية الفعل

١ – المواقع الفعالـــة

المركز الفعال لسطح انزيم الاسيتايل كولين استريز تتكون من منطقتان اوليتان (١) موقع مشحون سالبا الذى ينظم النشاط الانزيمى من خلال جذب او ارتباط او توجيه المواد الوسيطة الكاتيونية بواسطة قوى الجذب الكولومبى وفاندرفالز (٢) الموقع الاستراتى وهو المسئول عن النشاط التحليلى . انزيم الاسيتايل كولين استريز ذو القابلية للاسيتايل كولين اعلى من اى استر اخر

معروف يحدث فى مواضع الالتقاء العصبى للأنسجة العصبية للفقاريات واللافقاريات .

* ٢ - الفعل الفسيوليوجى :

يرتبط الاسيتايل كولين بانتاج جهد العصب من خلال التحكم فى نفاذية الغشاء العصبى للأيونات وقد تحدث نفس الفعل فى التحكم فى نفاذية كرات الدم . يحتوى نسيج العصب على الاسيتايل كولين استريز بزيادة عشرة اضعاف ويتم التوصيل عند تثبيط ٩٠ ٪ او اكثر من الانزيم (Metcalf - ١٩٥٥) .

*** ٣ - مثبطات انزيمات المجموعة الاولى والثانية :**

المبيدات الحشرية التى تثبط الكولين استريز تتفاعل بصور مختلفةعلى انزيمات المجموعة الاولى والثانية . مبيد الديازينون والسيفين والسيستوكس والتربثيون والفورات وغيرها تحدث درجات متماثلة من التثبيط عندما تحضن مع بلازما الحصان او الإنسان . مبيدات الباراثيون والملاثيون اكثر تثبيطا لانزيم بلازما دم الانسان مقارنة ببلازما الحصان . لذلك ولكى يمكن الكشف وتقدير كميات صغيرة من الملاثيون (٢ر - ١٠ جزء فى المليون) يكون من الضرورى استخدام بلازما الانسان . يمكن التفرقة بين مبيدى السيستوكس والملاثيون باستخدام بلازما الانسان والحصان .

*** ٤ - سمية مثبطات الكولين استريز :**

بوجه عام يمكن القول ان سمية بعض المبيدات الحشرية تحدث بسبب تثبيط الكولين استريز ومن احسن الامثلة على ذلك سمية المبيدات الفوسفورية العضوية على الثديات . ولقد استنتج الباحث Dubois (١٩٦١) التقنيات المسئولة عن تقوية سمية هذه المبيدات فى التفاعلات خارج الكائن الحى ترجع الى التداخل بمركب واحد مع فقد سمية الاخر بواسطة استريز الكبد كما فى المعادلة (٣) . والتفاعلات الثلاثة التى تؤخذ فى الاعتبار هى التنشيطActivation والفعل mechanism وفقد السمية detoxification .

١ - التنشيط (ر أ) ٢ - فو - ر + اوكسيديز ميكروسوم + دايفوسفوبيربدين+ اكسجين
كب١١ الكبد نيوكليوتيد

ر - فو - (ر أ)٢
أ١١

٢ - الفعل واحداث التأثير السام من خلال تثبيط الكولين استريز .

بواسطة المركب (ر أ)٢ - فو - ر
أ١١

٣ - فقد السمية من خلال التحلل المائى للمركب (ر أ)٢ - فو - ر وهذا يحدث بواسطة الاالليسيتيرازات الكبد والسيرم وغيرها من الانسجة .

جدول (١) : سمية بعض المبيدات الحشرية الفوسفورية على الفئران (معاملة فمية) .

المبيد الحشرى الفوسفورى العضوى	الجرعة النصفية القاتلة (مللجم / كجم)
ديازينون	١٠٠ – ١٥٠
داى بروم	٤٣٠
داى سيستون	٢ – ١٢,٥
داى لوكس	٤٥٠
اثيون	٢٠٨
جوثيون	١٥ – ٢٥
ملاثيون	٥٨٠٠
باراثيون	٦ – ١٥
فوزمدين	٦,٨
سيستوكس	٢,٥ – ٧,٥
	١,٢ – ٢,٠
فورات	٣,٧
ترايثيون	٢,٨

** * طرق قياس نشاط كولين استريز :**

توجد اربعة طرق اساسية لقياس نشاط الكولين استريز وتأثير المثبطات وهى قياس الجهد Potentiometric والتنقيط titremetric والمانومترية manometric واللونية colorimetric .. وفيم يلى وصف لكل طريقة مع توضيح المميزات والعيوب لكل منها .

*** أ) طريقة قياس الجهد :**

فى هذه الطريقة يسمح لانزيم الكولين استريز بالعمل على الاستايل كولين فى محلول منظم لفترة معلومة (عادة ١ – ٢ ساعة) على درجة حرارة ثابتة . تقاس حموضة المخلوط فى البداية والنهاية والتغير فى الحموضة بسبب انفراد حمض الخليك تمثل النشاط الانزيمى (Michel – ١٩٤٩) . مقياس التغير فى الحموضة يكون مرضيا لقياس نشاط الاستريز عندما يتناسب معدل التغير فى الحموضة مع النشاط الانزيمى ومن ثم يجب اخذ النقط التالية فى الاعتبار : (١) النقص الملحوظ فى نشاط الكولين استريز مع نقص الحموضة ، (٢) احتمال تأثير مستحضر الانزيم مع كفاءة المحلول المنظم للنظام . فى اصل الطريقة إختار ما يكل Michel محلول منظم فيه تتناقص كفاءة الحفظ او التنظيم buffering فى المدى من ٨ الى ٦ مما يعوض عن نقص نشاط الكولين استريز .

* ب) طريقة المعايرة او التنقيط :

يتمثل اساس هذه الطريقة فى معايرة حمض الخليك المنفرد بواسطة مادة قلوية حتى درجة حموضة ثابتة باستخدام دليل قاعدى او باستخدام جهاز المعايرة Conductometric . الطريقة الاولى يعاير حمض الخليك المنفرد مع دليل احمر الكريزول للتحلل المائى للاسيتايل كولين كما يمكن قياس التغير فى التوصيل الكهربى Conductivity خلال التفاعل الانزيمى .

* حـ) الطريقة المانومترية :

تم وصف طريقة القياس المانومترى بجهاز فاربورج Warburg لقياس نشاط الكولين استريز بواسطة Ammon (١٩٣٣) . فى معظم الطرق المحورة فان الوسط ذو الحموضة ٧,٥ تحتوى بيكربونات وايونات الكالسيوم والماغنسيوم كمنشطات للكولين استريز وكذلك ايونات الصوديوم والبوتاسيوم اعتمادا على نوع الكولين استريز . يستخدم هذه الوسط لاذابة وتخفيف كلا الوسيط الكيميائى وتجهيز الانزيم . ان دوارق فاربورج تكون ذات حجم وشكل ثابت والحجم الكلى لمخلوط التفاعل يحفظ على ٢ - ٣ ملليلتر وهناك بعض الحالات يستخدم حجم كبير (٥ - ٧ ملليلتر) . يوضع الانزيم فى الحجرة الاساسية للدورق او فى القابلة الجانبية ويظل الوسيط الكيميائى منفصل عن الانزيم حتى بداية القياس فى نقطة البداية Zero-time وبعد ذلك تسجل قياسات المانومتر بعد فترة معلومة من الوقت .

يعبر عن النتائج بقيم ثانى اكسيد الكبرون المنفرد بالميكروليتر من المنظم بيكربونات بواسطة حمض الخليك الناتج خلال التفاعل فى الثلاثين دقيقة الاولى . فى جميع الحالات يجب تصحيح النتائج لاستبعاد تأثير الاسترات التى لم تتحلل انزيميا وتبادل الغاز من مصادر الكولين استريز فى غياب الوسيط الكيميائى . ان اهمية مختلف الايونات خاصة البوتاسيوم والصوديوم لأنواع الكولين استريز ما زالت محل دراسة ونقاش . ان قياس نشاط الكولين استريز فى غياب الماغنسيوم والكالسيوم خاصة فى التجهيزات الغير نقية غير مستحب بسبب ضرورة هذه الايونات لاحداث النشاط .

* د) الطرق اللونية :

١ - الدلائل الداخلية والخارجية :

لقد بنى Rider ومعاونوه عام ١٩٥١ الطريقة اللونية على التحلل المائى للوسيط الكيميائى الفينيل بنزوات وانتاج الفينول الذى يقدر لونيا من خلال الازدواج بصبغة النفثايل داى ازو الحمراء B . اما طريقة Jansen واخرون (١٩٤٩) تعتمد على تقدير مركب اوكس نيتروفنينيل المنفرد من اوكسى نيتروفنينيل اسيتات بفعل الاسيتايل استريز من الموالح . لقد وضع Beggs ومعاونوه عام ١٩٥٨ طريقة لقياس الكولين استريز الموجود فى الخلايا والبلازما على اساس التغير فى الامتصاص الضوئى لصبغة مركب البروموثيمول بلو كنتيجة لانتاج حمض الخليك من الاسيتايل كولين . لقد قاس Caroway (١٩٥٦) النقص فى امتصاص الفينول .

٢ - التقدير اللونى للاسيتايل كولين :

قام Hestrin (١٩٤٩) بقياس وتقدير الاسيتايل كولين الباقى اى الذى لم يدخل فى التفاعل لونيا عند تمام التفاعل الانزيمى فى وجود زيادة من ايون الحديديك فان اللون البنفسجى لمركب Ferric acethydro - xamate (الاسيتايل كولين + هيدروكسيل امين) (تفاعل ١٠) يقاس على موجة ٥٤٠ ميكرون . استرات الاحماض الكربوكسيلية وبعض المواد الاخرى قد تنتج لون بنفسجى ومن ثم تتداخل مع هذه الطريقة .. يمكن ايضاح معادلة هذا التفاعل فى الاتى :

$$(CH_3)_3 - {}^{+}N - CH_2O - (OCH_2 \qquad NH_2OH)$$

هيدروكسيد امين + اسيتايل كولين

$$(CH_3)_3 - {}^{+}N - CH_2CH_2OH + CH_3CO - NHOH \quad .... \ (١٠)$$

(١١)

$$CH_3CO - NHOH + Fe^{+3} \longrightarrow CH3C\begin{matrix} O - Fe/3 \\ NH - O \end{matrix}$$

لون بنفسجى

٣ - دلائل الوسيط الكيميائى الداخلية :

تم وصف الطريقة اللونية بواسطة Kramer & Gamson (١٩٥٨) لقياس نشاط الكولين استريز على اساس أن الطريقة تتطلب استخدام وسيط كيميائى يعطى لونا بعد التحلل الانزيمى وهذه الجواهر الكشافة الملونة ذات التركيب التالى :

$$O = \langle X \rangle = N - \langle Y \rangle - O - \overset{O}{\overset{\|}{C}} - R$$

× ، Y مجموعات احلالية مختلفة فى حلقة الكوينويد (Δ) او حلقة البنزويد B بينما قد تكون مجموعة ميثيل CH3 - أو أى مجموعة اخرى . التفاعل الانزيمى للاندوفينيل اسيتات كما يلى :

$$O = \langle \rangle = N - \langle \rangle - O - \overset{O}{\overset{\|}{C}} - CH_3 \xrightarrow[\text{شديد}]{\text{أنثولين}}$$

$$O = \langle \rangle = N - \langle \rangle - O + O - \overset{O}{\overset{\|}{C}} - CH_3$$

لون أزرق يقاس على ٦٢٥ ميكرون

*** * تنشيط مثبطات الكولين استريز :**

*** أ – طرق التنشيط :**

كان يقتصر استخدام طريقة تثبيط انزيم الكولين استريز لتقدير مخلفات المبيدات على المركبات الفوسفورية العضوية التى تستخدم او لها المقدرة على التاثير على الانزيم خارج الخلايا الحية invitro بعد ذلك تم الكشف عن طرق كيميائية لتنشيط المبيدات التى لا تملك هذه الخاصية حتى تصبح قادرة على تثبيط الانزيم . ولقد كان Giang & Hall (١٩٥١) من الاوائل الذين اوضحوا ان الباراثيون يتحول بواسطة حمض النتريك المدخن البارد الى مثبط قوى للكولين استريز . وقد ثبت بعد ذلك ان الباراثيون يتحول الى بارا اوكسون مع ماء البروم المخفف (Fallscher & Cook – ١٩٥٦) كما اشار Cook (١٩٥٩) الى ان الملاثيون وغيره من الثيونوفوسفات تتحول الى مثبطات قوية للكولين استريز على ورق الكروماتوجرام عند رشها بمركب (NBS) N-bromosuccinimide (NBS) .

اشار Casida ومعاونوه (١٩٥٢) الى ان مركب الشراداان ينشط كيميائيا ويتحول الى مثبط قوى للانزيم من خلال الاكسدة بواسطة البرمنجنات المتعادلة . لوحظت تفاعلات مماثلة عند تحضين المركب مع شرائح من الكبد او النسيج النباتى . بعض مبيدات الفوسفورثيونات التى لا تنشط بالبرومين على البارد يمكن اكسدتها بواسطة بيرينزويك او بير اسيتيك اسيد تحت ظروف خاصة (Giang Schechter – ١٩٦٠ ، Patchet & Batchelder – ١٩٦٠) . وقد اقترح بومان وكاسيدا (١٩٥٧) مسار تحول مبيد الفورات الى مشتق اكسيجينى كما فى المعادلات التالية :

$$(C_2H_5O)_2\overset{S}{\overset{|}{P}}-S-CH_2-S-C_2H_5 \longrightarrow -\overset{O}{\overset{|}{S}}- \quad \overset{O}{\overset{|}{\underset{\underset{O}{|}}{S}}}$$

الفورات — سلفوكسيد — سلفون

*** ب – تنشيط بعض المبيدات الحشرية :**

يوضح الجدول (٢) قيم التركيزات المثبطة النصفية I_{50} لبعض مثبطات الكولين استريز من مختلف المصادر عندما قدرت بطريقة قياس فرق الجهد . ثبت ان التأثير التاكسدى لماء البرومين وحمض فوق الخليك على الديازينون والايثون متشابهين كما اتضح ان تأثير حمض فوق الخليك وفوق البنزويك اسيد فى تنشيط الفورات متكافئة . يثبط السيفين كولين استريز الدماغ بمقدار ١٠٠ ضعف ما يحدث لانزيم البلازما او الدم . الملاثيون والباراثيون المنشط يثبط انزيم بلازما الانسان ١٠٠ مرة مثل كولين استريز البلازما فى الحصان . فعالية الفورات المنشط فعال بدرجة ١٠٠ ضعف على انزيم مخ الذباب مقارنة بالمصادر الاخرى من الكولين استريز .

* جـ - بعض دراسات تنشيط الفورات :

تم اكسدة المبيد الفوسفورى الجهازى الفورات بواسطة حمض فوق الخليك ثم قدرت نواتج الاكسدة بواسطة اسبتكروفوتومترى الاشعة تحت الحمراء والكرماتوجرافى الورقى وكذلك تثبيط انزيم الكولين استريز .. يوضح الشكل (٢) طيف الفورات وناتج اكسدته ومشتق السلفون . والجداول (٣) يوضح فعالية وكفاءة تثبيط الفورات ونواتج التمثيل على انزيم الكولين استريز .

جدول (٢) : قيم التركيز النصف مولر التى تثبط الكولين استريز من المبيدات الفوسفورية او الكارباماتية عندما قدرت بطريقة قياس فرق الجهد .

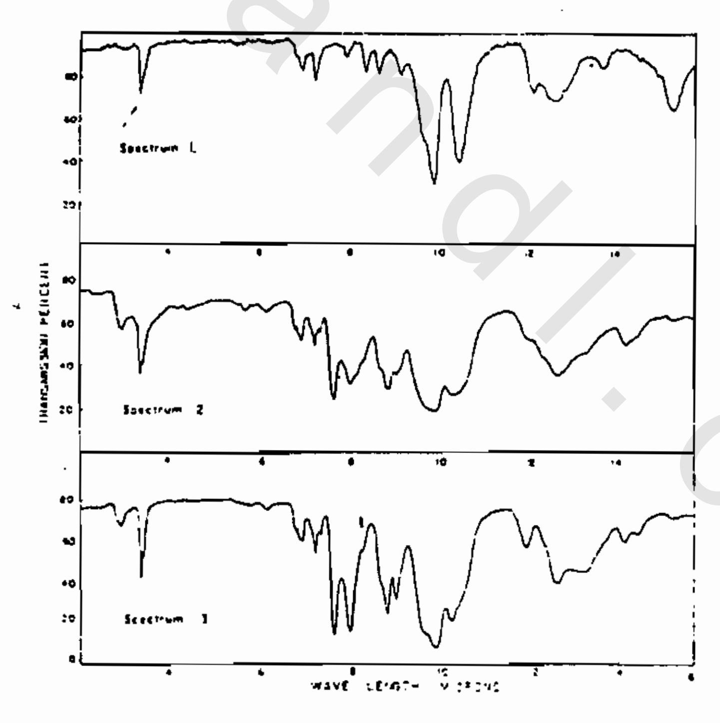
Cholinesterase enzyme group	Enzyme group	Insecticide	Molar conc. for 50% inhibition	Method of oxidation
Horse plasma	II	Demeton	3.4 x 10-6	None
Human plasma	II		1.1 x 10-6	
Horse plasma	II	Diazinon	5.6 x 10-6	Bromine water
			8.0 x 10-6	Peracetic acid
Horse plasma	II	Di-Syston	2.9 x 10-6	Peracetic acid
Horse plasma	II	Dylox	5.0 x 10-7	None
Human plasma	II		4.1 x 10-7	
Horse plasma	II	Ethion	4.8 x 10-8	Bromine water
			6.0 x 10-8	Peracetic acid
Horse plasma	II	Guthion	2.2 x 10-7	Peracetic acid
Horse plasma	II	Malathion	6.4 x 10-5	Pearacetic acid
Human plasma	II		6.0 x 10-7	Peracetic acid
Horse plasma	II	Parathion	3.2 x 10-6	Pearacetic acid
Human plasma	II		9.1 x 10-9	Peracetic acid
Horse plasma	II		2.2 x 10-6	
Human plasma	II		6.7 x 10-6	
Housefly-head brei	I	Sevin	6.7 x 10-6	None
Bovine erythrocyte	I		5.1 x 10-6	
Horse plasma	II	TEPP	2.0 x 10-6	None
Horse plasma			1.5 x 10-7	Peracetic acid
			1.5 x 10-7	Perbenzoic acid
Human plasma	II	Phorate	1.5 x 10-7	Peracetic acid
Bee-head brei	I		8.2 x 10-7	Peracetic acid
Housefly-head brei	I		6.2 x 10-8	Peracetic acid
Horse plasma	II	Trithion	2.5 x 10-8	Pearacetic acid
Human plasma	II		3.8 x 10-8	Peracetic acid

Amount of enzyme was chosen so that a Δ pH of 1.5 to 2.0 was attained in 60 minutes at 25°C with no inhibitor present. I50 is the molarity of inhibitor which results in 50°C of the activity of the control.

جدول (٣) : التركيز النصفى بالمولر الذى يثبط انزيم الكولين استريز بالفورات ونواتج تمثيله .

المركب	التركيز بالمولر الذى يحدث ٥٠٪ تثبيط
الفورات	$٥,٣ \times ١٠^{-٥}$
الفورات المؤكسد	$١,٨ \times ١٠^{-٧}$
فوسفورودای ثيوات سلفوكسيد	$١,٤ \times ١٠^{-٧}$
فوسفورودای ثيوات سلفون	$١,٩ \times ١٠^{-٧}$
فوسفورودای ثيولات سلفوكسيد	$١,٥ \times ١٠^{-٧}$
فوسفورودای ثيولات سلفون	$١,٥ \times ١٠^{-٧}$

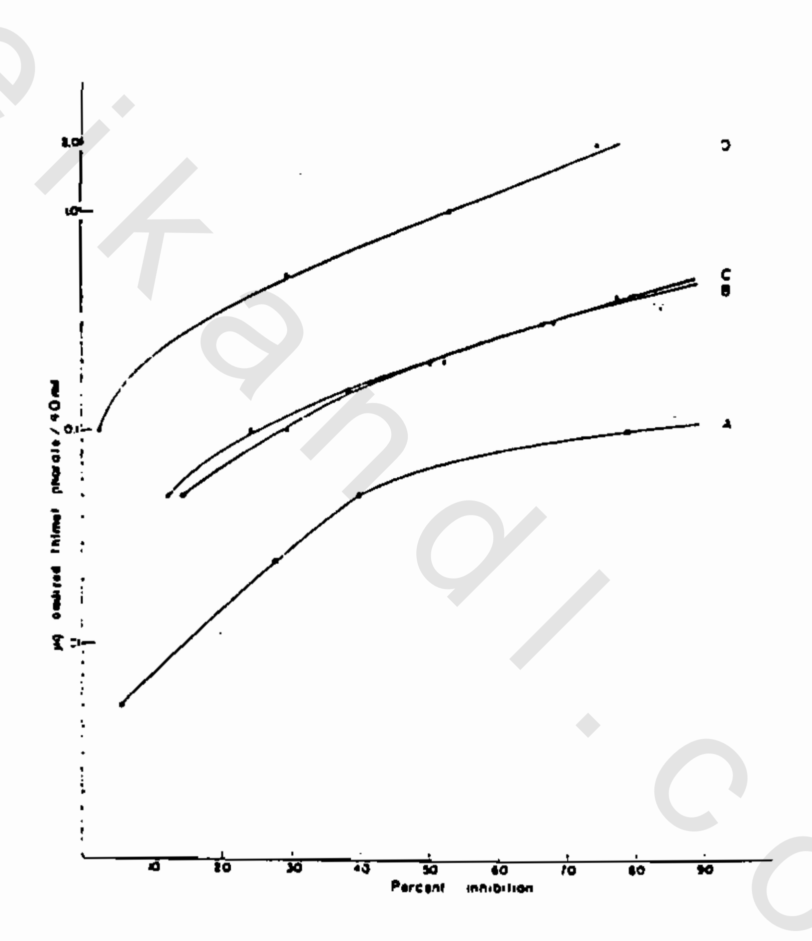
تلعب فترة الأكسدة دورا هاما فى تحديد نواتج التمثيل والاكسدة وقد ثبت ان الاكسدة حتى ٦٠ دقيقة باستخدام مخلوط من فوق اكسيد الايدروجين وحامض الخليك الثلجى وخلال هذه الفترة لا يحدث اى فقد يذكر .



شكل (٢) : طيف الاشعة تحت الحمراء للفورات (١) والفورات المؤكسد (٢) والفورات غير المؤكسد السلفون (٣) .

* د – مصادر الكولين استريز :

يوضح الشكل (٤) منحنيات تثبيط انزيم الكولين استريز عندما قدرت بالتغير في درجة الحموضة Δ PH للانزيم من اربعة مصادر مع الفورات المنشط بحمض فوق الخليك . ثبت ان التركيز النصفى المثبط I_{50} لبلازما الحصان (C) وبلازما الانسان (B) تساوى ١,٨ × ١٠ $^{-٧}$ مولر بينما كانت مع رأس الذباب (A) ٦,٣ × ١٠ $^{-٨}$ مولر ولانزيم مـخ نحـل العسل (D) ٧,٢ × ١٠ $^{-٧}$ مولر .



شكل (٤) : محنيات تثبيط الكولين استريز المقدرة بطريقة فرق الجهد عند تثبيطها بالورات المنشط بحمض فوق الخليك .

* استخدام تثبيط الكولين استريز فى تحليل مخلفات المبيدات

ثبت قيمة الطرق الانزيمية فى الكشف عن اثار العديد من المبيدات والتى يصعب قياسها بالوسائل الكيميائية الاخرى . يجهز المحصول او السلعة الغذائية المتوقع او المشكوك فى احتوائها على المبيد وتنقى ويقدر المبيد من خلال مقدرته على تثبيط الانزيم .

* أ - الاستخلاص والتنقية

يتوقف اختيار الطريقة المناسبة للإستخلاص على الطبيعة الكيميائية للمبيد ووجود المواد المتداخلة الطبيعية والطريقة المستخدمة فى قياس نشاط الكولين استريز . مع القليل من الاستثناءات يجب ان تستخلص العينة وتنظف قبل ان تصبح صالحة للتقدير بطريقة التثبيط الانزيمى . وكذلك يجب ان يحتوى المستخلص على جميع المثبط فى العينة مع اقل كمية ممكنة من المواد المتداخلة ويفضل خلو العينة منها . كما يجب ان تكون عينة التحليل ممثلة للمادة محل الاختبار والتقدير .

* ب - مميزات طريقة الكولين استريز

من مميزات استخدام طريقة تثبيط انزيم الكولين استريز لتقدير مخلفات المبيدات الفوسفورية العضوية (١) الحساسية الزائدة بشكل كبير عن الطرق الكيميائية الاخرى ، (٢) ملاءمة الطريقة خاصة اذا كان المبيد يتحول فى النبات منتجا نواتج تمثيل ذات كفاءة تثبيطية عالية . ومن عيوب الطريقة انها تفتقر يالى الخصوصية حيث لا يمكن من خلالها التفرقة بين الانواع المختلفة من المثبطات خاصة مبيدات الآفات .

* جـ - وصف مختصر لبعض الطرق المتخصصة

١ - طرق قياس فرق الجهد

استخدم Giang & Hall (١٩٥١) فى البداية طريقة فرق الجهد بنجاح لتقدير Tepp والبارا اوكسون وغيرها من المبيدات الفوسفورية العضوية التى تعمل كمثبطات خارجيةIn Vitro . الطريقة غير مناسبة لمبيدات الثيونو والداى ثيو فوسفات بسبب مقدرتها الضعيفة على تثبيط الانزيم خارجيا . لقد استخدمت طرق كيميائية لتنشيط مثل هذه المبيدات وتحويلها الى مركبات عالية المقدرة على التثبيط .

تذاب المواد القياسية ومستخلصات العينة فى مذيب عضوى مناسب وتوضع فى كأس سعة ١٠ ملليلتر يحتوى على ٥٠ ميكروليتر جليسرول . يتم تبخير المذيب العضوى بواسطة تيار هواء دافئ وفائدة الجليسرول انه يحفظ المبيد من الفقد بالبخر . يوضع الكأس مع قضيب زجاجى فى حمام مائى هزاز مضبوط الحرارة على CO + ١° م . يضاف ٣ ملليلتر من مخلوط البلازما فى المحلول المنظم على فترات ١ دقيقة . البلازما تؤخذ من بلازما دم الانسان او الحصان . يسمح لمخلوط الانزيم والمثبط للاستقرار فى الحضانة لمدة ٢٩ دقيقة على ٢٥° م . تقاس حموضة المحلول بواسطة

جهاز قياس الحموضة PH meter وبعد الدقيقة ٣٠ بالضبط يضاف ١ ملليلتر من الاسيتايل كولين بروميد لكل كأس . الكؤوس المتبقية تعامل بنفس الطريقة على فترات كل دقيقة واحدة بعد تحضين الانزيم مع الوسيط الكيميائى لمدة ٦٠ دقيقة على ٢٥ م . يعاد قياس الحموضة وتسجيلها . التغير فى الحموضة Δ PH للمقارنة يجب ان يقع فى حدود ١,٥ - ٢ وحدة من المفضل تحليل ٣٦ عينة بما فيها العينات القياسية . تحسب النسبة المئوية للتثبيط من المعادلة التالية :

التغير فى الحموضة = PH البداية - PH النهاية (٣)

$$\text{٪ تثبيط} = \left(1 - \frac{\Delta PH \text{ فى العينة}}{\Delta PH \text{ فى المقارنة}} \right) \times 100 \quad (٤)$$

اذا كانت هناك حاجة لتنشيط المبيد حتى يصبح قادرا على تثبيط الانزيم يحضر محلول طازج من مخلوط يحتوى على حجم ٣٠ ٪ من فوق اكسيد الايدروجين مع ٥ حجوم من حمض الخليك الثلجى . يسخن ٥ ملليلتر من مخلوط الأكسدة لمدة ٢٠ دقيقة على ٧٥° م . بعد اكتمال الاكسدة يغسل حمض الخليلك الثلجى الزائد من البنزين باستخدام محلول كبريتات الصوديوم المشبعة مرتان ١ ملليلتر فى كل مرة وثلاثة مرات من الماء المقطر كل مرة ١ ملليلتر كذلك . يتم تجفيف طبقة البنزين على طبقة من كبريتات الصوديوم اللامائية وترشح ثم تقدر كما سبق .

٢ - الطريقة اللون :

استخدم Archer & Zweig (١٩٥٩) طريقة لونية مع الوسيط الكيميائى اندوفينيل اسيتات . وفى هذه الطريقة يكون من الضرورى استخدام انزيم كولين استريز المخ او الدم . تعتمد الطريقة على القياس المباشر للون على ٦٢٥ ميكرون لناتج التحلل المائى للاندوفينيل اسيتات على درجة حموضة ٨.– الجدول التالى مقارنة للطرق الثلاثة لتقدير احد المبيدات الفوسفورية .

جدول (٣) : مقارنة لكفاءة ثلاثة طرق للتقدير بالانزيم .

الطريقة	الوسيط الكيميائى	جزء فى المليون ppm
التغير فى الحموضة	ايثايل كولين كلوريد	٣٥,٠
الكروماتوجرافى الورقى	--	٣٧,٥
الطريقة اللونية	اندوفينيل اسيتات	٣٩,٦

REFERENCES قائمة المراجع

Note : Only some of the papers dealing with the specific topic of the inhibition of cholinesterase by organophosphorus and carbamate insecticides are cited. This in no way ignores the important contribution by many other scientists, but an allinclusive bibliography does not fall within the scope of this chapter.

Aldridge W. N. (1958). Biochem. J. 54, 442-448.

Ammon, R. (1988d). Pflügers Arch. Ges. Physiol. 233, 486.

Archer, T. E. and Zweig, G., (1959), J. Agr. Food Chem. 7, 168-181.

Archer, T. E. and Zweig, G., Winterlin. W., and Francis, K. (1963), J. Agr. Food Chem. 11. 58-63.

Augustinsson, K. B. (1957). In "Methods of Biochemical Analysis" (D. Glick, ed.). Vol. dI. pp. 1-63. Interscience. New York.

Beggs, H. G., Carey, S., and Morrison, D. B. (1958). Am. J. Clin. Pathol. 30.181-186.

Bowman, J., and Casida. J. (1957). J. Food Chem. 5, 192-197.

Carawlay, W. (1956). Am. J. Clin. Pathol. 26, 945-955.

Casida, J. E. (1955). Biochem. J. 60. 487-197.

Casida, J. E. (1956). J. Agr. Food Chem. 4, 772-785.

Casida, J. E. Allen. T. C., and Stahmann, M. A. (1952). J. Am. Chem. Sec. 74.5545.

Cook, J. W. (1955a). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 38, 826-882.

Cook, J. W. (1955b). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 38, 150-152.

Curry, A. N., Kress, L. M., and paylor, R. A. L. (1961). J. Agr. Food Chem. 9. 469-177.

Dale, H. H. (1914). J. Pharmacol. Exptl. Therap. 6, 147-150.

Davies, D. R., and Rutland, J. P. (1950). Biochem. J. 47, 21-22.

Dubois, K. P. (1961). Advances in Pest Control Research 4, 117-151.

Dutch Paten (1953). No. 73307 (September 15, 1958(; Chem. Abst. (1954).48, 7104.

Fallscheer, H. O., and Cook, J. W. (1956). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 39, 691-697.

Fukuto, T. R. (1957). Advances in Pest Control Research I, 147-192.

Gage, J. C. (1961). Advances in Pest Control Research 4, 188-210.

Clang, P. A., and hall, S. A. (1951). Anal. Chem. 23, 1880-1884.

Clang, P. A., and Schechter, M.S. (1960). J. Agr. Food Chem. 8, 51-54.

Hall. G. E. and Lucas, C. C. (1987). J. Pharmacol. Exptl. Therap. 59, 34.

Hestrin, S. (1959), J. Biol. Chem. 180, 249-261.

Jansen, E. F., Nutting. M.D.F., Jang. R., and Balls. A. K. (1949). J. Biol. Chem. 179, 189-199.

Kramer, D. N., and Gamson, R. M. (1958). Anal. Chem. 30, 251-254.

Lesuk, A. (1949). U.S. Paten 2.475.792 U.S. Patent 2.475.793.

Metcalf, R. L. (1955). "Organic Insecticides" pp. 251-315. Interscience. New York.

Metacalf. R. L., Fukuto, T. R., and March. R. B. (1957). J. Econ. Entomol. 50. 838-845.

Michel. H. (1949). J. Lab. Clin. Med. 34. 1564-1586.

Miskus, R. , and Hassan, S. (19k59). J. Econ. Entomol. 52, 3530355.

Pack D. E., ospenson, J., and Kohn. G. K. (1960). Abstr. 188th Meeting Am. Chem. Soc., Atlanta City, September, No. 58. p. 20A.

Patchett, G. G., and Batchelder, G. H. (1960). J. Agr. Food Chem. S. 54-57.

Renshaw, R. R., and Bacon. N. J. (1926) . J. Am. Chem. soc. 48. 1726.

Rithter, D., and Croft. P. C. (1942). Biochem. J. 36. 746.

Rider, J. A., Moeller. H. C., and DuBois K. P. (1951). Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 76, 427.

Strehler. E., and Meyer, H. (1952), Helv. Med. Acta 19.555.

Van Asperen, K., and Dekhiujzen, H. M. (1958). Blochim. et Biophys. acta 25. 603-613.

Zweig, G., and Archer. T. E. (1958). J. Agr. Food Chem. 6. 9100916.

الفصل الســابع عشــر

– استخدام تقدير المناعة فى تحليل مخلفات مبيدات الآفات :

* مقدمــــة
* مميزات تكنولوجيا كيمياء المناعة .
* استخدام الطريقة مع المبيدات الكيميائية .
* توازن مميزات التحليل بالمناعة .
* الاستخدامات فى كيمياء المبيدات .
* تحليل المركبات التى يصعب تحليلها بالطرق التقليدية .
* تمييز المشابهات والمركبات القريبة .
* تحليل سوائل جسم الانسان ومعلمات حيوية .
* تحليل اعداد كبيرة من العينات .
* التحليل السريع او / والميدانى .
* تحليل نواتج بحوث التكنولوجيا الحيوية .
* التوصيات .
* صلاحية التحليل بالمناعة .
* ادخال التحليل المناعى فى معامل التحليل .
* اختيار المركبات الاولية للتحليل .
* قائمة المراجع



استخدام تقدير المناعة في تحليل مخلفات مبيدات الآفات

Utility of immunoassay in pesticide trace analysis

مقدمـــة Introduction :

تستخدم طرق تقدير المناعة على نطاق واسع فى الكيمياء الحيوية وتحليلات الغدد الصماء وكذلك الكيمياء التشريعية ونادرا ما تستخدم فى الكيمياء البيئية . والفشل السابق الذى عانى منه الكيميائيون المعنيون بعلوم البيئة من عدم الاستفادة من هذه الوسيلة التكنولوجية المتقدمة على نطاق واضح يرجع الى الخلفية التاريخية السابقة وليس الى عدم ملائمة هذه التكنولوجيا . وفى عام ١٩٨٠ اشار Hammock & Mumma الى مقدرة كيمياء المناعة فى تحليل المبيدات وعددوا نقاط قبولها . وبعد ٦ سنوات اظهرت العديد من الهيئات اهتماما كبيرا بهذا التكنيك على المستوى الاكاديمى والحكومى والمعامل الصناعية . وخلال الحقبة الزمنية الاخيرة بدأ استخدام تكنولوجيا كيمياء المناعة فى تناول المشاكل المتعلقة بالكيمياء البيئية فى هذه المعامل . ونستطيع القول ان هذه التكنولوجيا لا تمثل العلاج الحاسم والشافى لكل المشاكل ولكنها تعتبر وسيلة مكملة لطرق التحليل التقليدية فى مختلف المجالات . وتقدم هذه الوسيلة مميزات متعددة عما هو الحال مع الطرق الكلاسيكية المعروفة فى حل بعض المشاكل وربما تكون الطريقة التكنولوجية الصالحة فى بعض المجالات الاخرى .

وسنحاول فى هذا المقال وصف كيفية عمل وتطوير طريقة التقدير المناعى لمخلفات المبيدات وغيرها بما يطلق عليه كيمياء المناعة immuno chemistry مع القاء الضوء على مميزات وعيوب هذه التكنولوجيا مع الاشارة الى البحوث السابقة والحالية التى تجرى فى معامل الحشرات والتوكسيكولوجيا البيئية فى جامعة كاليفورنيا لتقدير مخلفات المبيدات . وهذه التكنولوجيا وببساطة اسلوب بديل وغير مكلف لطرق التحليل التقليدية .

مميزات تكنولوجيا كيمياء المناعة Advantages of immunochemical technology :

طريقة تقدير المخلفات باستخدام اسلوب المناعة يستخدم بوجه عام فى كيمياء المبيدات ، وتتميز هذه الطريقة بالحساسية والتخصص والدقة مما يحقق تحليل سريع ومناسب التكلفة كما انها قابلة للتطوير بما يتلاءم مع العديد من المشاكل الخاصة بالتحليل .

* استخدام الطريقة مع المبيدات الكيميائية Applicability to pesticide chemicals :

التقدير باسلوب كيمـــياء المناعـــة تمثل الاستخدام الـــفورى للتكنولوجيا الحـــيوية biotechnology وبالرغم من ان هذه الطريقة تعتبر طريقة طبيعية physical استنادا الى قانون فعل الكتلة وليس حيوية bioassays الا انها تستمد حساسيتها الفائقة وتخصصها العالى الى النظم الحيوية biological systems التى تنتج الاجسام المضادة التى سوف ترتبط بالمركبات التى

تملك قابلية كبيرة للارتباط بها . ومن المحتمل ان تستخدم طرق تكوين المناعة لتقدير تركيبات واسعة الاختلاف بدرجة تفوق ايا من تكنولوجيات التحليل الاخرى . وحيث ان قابلية الجسم المضاد للمركب المعنى بالتقدير تتوقف على مجموع مختلف التداخلات الغير تكافؤية non covalent بصبح من الصعوبة بمكان تجهيز الاجسام المضادة للجزيئات الصغيرة . ومن حسن الحظ عدم وجود حدود قصوى لحجم المركبات الممكن تحليلها . وحيث ان مجال مكافحة الآفات تتجه لاستخدام الجزيئات المخلقة المعقدة (مثل مثبطات النمو الحشرية الدايفلوبنزيرون والكلور سلفيرون) ونواتج التخمر مثل الافيرمكتين والبروتينات مثل توكسينات بكتريا الباسيللس ثورينجينسيز ، يصبح من الأهمية ايجاد طرق مقبولة لتحليل هذه الجزيئات الضخمة .

تحليلات المناعة تجرى عادة فى محلول مائى ولذلك يجب ان يكون الجزئ المطلوب تحليله وتقديره ذو ثبات متوسط (على الاقل) فى الماء . ومن المثير للدهشة ان الذوبان فى الماء نادرا ما يعتبر مشكلة حيث انه حتى المركبات شديدة الحب للدهون Lipophilic غالبا ما تكون ذائبة فى الماء عند تركيزات غاية فى الصغر « البيكو pico أو الفيمتومولار Femtomolar » وهذه تلائم طريقة المناعة . وحتى المركبات شديدة القلة فى الذوبان يمكن ان تكون فى متناول الجسم المضاد فى صورة جسيم دقيق micelles او مع مرافقات الانزيمات الذائبة فى الماء .والمشاكل المصاحبة لتحليل المركبات عالية الذوبان فى الدهون ترجع فى العادة الى ازالتها من الوسط الزيتى بدرجة تفوق المشاكل الناجمة عن الذوبان المطلق . وكقاعدة عامة تستخدم تحليلات المناعة للكشف وتقدير الجزيئات التى يصعب تقديرها بالكروماتوجرافى الغازى السائل مما يضفى على هذه الطريقة اهمية كبيرة كتكنولوجيا مكملة مثيرة للاهتمام . وبالرغم من سهولة ايجاد طريقة تحليل المركبات الذائبة فى الماء الا انه يمكن القول وبدون استغراب ان تكنولوجيا كيمياء المناعة يمكن ان تستخدم لتحليل اى مركب . وبذلك تستخدم هذه التكنولوجيا بنجاح لتقدير مخلفات معظم مبيدات الآفات الشائعة فى الوقت الحالى ومن المتوقع ان تلائم هذه الطريقة للجيل التالى من المركبات .

*** توازن مميزات التحليل Balancing the advantages of immunoassay :**

فى عام ١٩٧٤ بدأت دراسات فى معامل جامعة كاليفورنيا لتحديد امكانية استخدام تكنولوجيا كيمياء المناعة لتحليل مبيدات الآفات وغيرها من الكيميائيات . ولقد صممت البحوث لتقييم مميزات وحدود هذه التكنولوجيا فى مجال الكيمياء البيئية . والجدول التالى (١) يوضح مميزات وحدود هذه الطريقة . وهذه المعايير ليست قواعد ثابتة حيث يمكن التغلب على العديد من محددات هذه الطريقة باللجوء الى استخدامات مبتكرة لهذه التكنولوجيا المتطورة .

جدول (١) : مميزات وعيوب تكنولوجيا كيمياء المناعة .

المميزات	العيوب
عام الاستخدام	يعتبر تكنولوجيا جديدة فى معامل الدراسات البيئية
عالية الحساسية	فائق الحساسية
عالية التخصص	من الصعب استخدامه فى التحليل المتعدد
عالية الدقة	تتفاعل مع المواد المتداخلة .
سريعة جدا	الجواهر الكشافة غير متوفرة
قليلة التكاليف	مسمياتها غير محددة
يمكن تطويرها بدرجة كبيرة	تتطلب عينة كبيرة للتحليل

ويجب ان نعيد التذكرة بان هذه الطريقة طبيعية تعانى من نقص تخيل حدوثها واجراءها . والمشتغل الذى عنده دراسة بهذه التكنولوجيا يستطيع عمل توازن بين مميزات وحدود التحليل الخاص بالمواصفات المطلوبة ، وهناك بعض البحاث غير قادرين على تحقيق كل مميزات طريقة التقدير المناعى . ومن الممكن تصميم طريقة تقدير مناعى غير مكلفة ذات حساسية متوسطة للكشف عن المخلفات الكيميائية وتطوير هذا الانجاز مع عدم توفر اجهزة متخصصة أو اشخاص مدربين . والبعض لا يتوقع ان تكون هذه الطرق عالية الحساسية والدقة . وبالرغم من ان طريقة تقدير المناعة تتفوق فى قوتها كطريقة لتحليل المركب الواحد الا انه يمكن تطويرها وجعلها قادرة على الكشف عن مجموعة من المركبات (مثل المبيدات الحشرية من مجموعة الآسيل يوريا) أو مخلوط المركبات (المواد ذات النشاط السطحى الغير ايونية) ولكن هذه التطويرات لا يمكن ضمان ان تحتفظ بميزة الحساسية العالية .

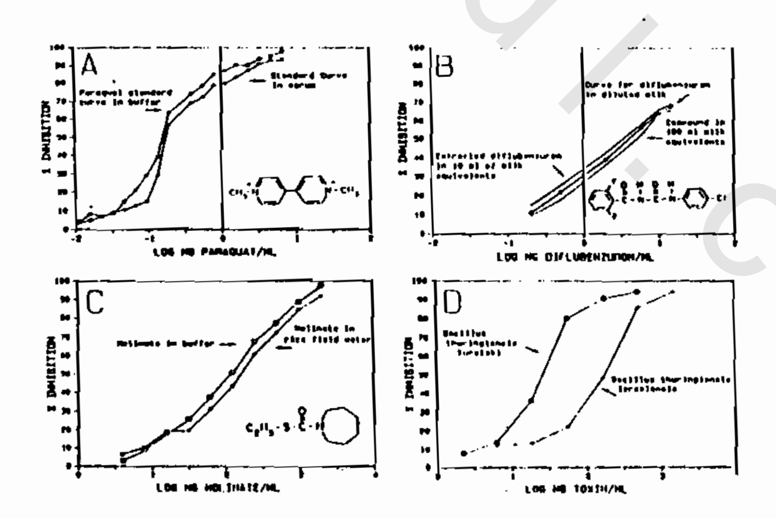
ولقد أكدت سنوات الخبرة العديدة فى مجال الكيمياء التشخيصية وزيادة الخبرات فى الكيمياء البيئية تعاظم مميزات اسلوب المناعة فى تحليل المخلفات . وتعتمد الحساسية العالية لهذا الاسلوب على الارتباط العكسى واللصيق للجسم المضاد مع المركب مجال التحليل . وحيث ان هذا الارتباط مبنى على مجموع التفاعلات الغير تكافؤية (خاصة التفاعلات الجزيئية الضعيفةالتى تعتمد على القرب بين المجاميع المتفاعلة) فان التفاعلات البيئية عالية التخصص . ومميزات التخصص والحساسية تمكن القائم بالتحليل من اجراء التحليل مباشرة على الوسط الحيوى الخـــام

كما فى الشكل IA لمبيد الباراكوات فى السيرم . وهذه الميزة تسمح بالاستغناء عن بعض خطوات الإستخلاص او التنظيف مما يزيد من سرعة اتمام التقدير وتقليل التكلفة وزيادة دقة العملية . وخير مثال لتأكيد هذه المميزات ما امكن تحقيقه من زيادة كفاءة التحليل مائة مرة فى عينات الالبان المطلوب تجهيزها لكل عامل فى اليوم مع تقليل التكلفة وزيادة الدقة والحساسية .

وحيث انه طورت العديد من مجاميع المبيدات مثل البيرثرويدز ومشتقات آسيل يوريا الحشرية أو سلفونيل يوريا لمكافحة الحشائش ، اصبح من المهم تطوير طرق تحليل حساسة للكشف عن المخلفات ذات الاهمية التوكسيكولوجية . ومن اكفأ الانجازات التى امكن تحقيقها فى تحليلات المناعة مع اقل قدر ممكن من خطوات التنظيف ما تحقق مع مركب اليوريا دايفلوبنزيرون (الشكل IB) .

وبالرغم من المميزات العديدة للتحليل بالمناعة الا ان فرط الحساسية يمثل نقطة الخوف الكبيرة فهناك احتمال لامكانية الاعتماد على هذا التكنيك لتقليل مستويات المخلفات التى يمكن الكشف عنها . وبالتأكيد هذا الاحتمال صحيح ولكن نفس الخوف ينطبق على جميع التحليلات بالوسائل الطبيعية . ومن المضحك انه يمكن تطوير طرق تقدير مناعية حساسة ولكنها ستكون على حساب فقد مميزات السرعة والدقة واقتصادية التكاليف . والميزة الحقيقية لهذا التنكنيك تتمثل فى امكانياتها فى تحقيق مستويات من الحساسية فى مجال التوكسيكولوجى مع توفير مجهودات وتكاليف كثيرة . وفى الحقيقة يمكن التحكم فى درجة حساسية هذه الطريقة بالمقارنة بالطرق الطبيعية الاخرى .

وجميع التحليلات المناعية تعتمد على قانون فعل الكتلة وكذلك على قياس الجسم المضاد الذى يرتبط بالمركب او الجسم المضاد الحر والمركب . وهذا يقدم للباحث ميزة كبيرة للتصرف وتحرير التكنيك بما يتمشى مع المشكلة= التى يتناولها . وباستخدام نفس الجسم المضاد يمكن



شكل (١) : بعض الامثلة لاستخدامات التحليل بالمناعة immunoassay فى تحليل مبيدات الآفات .

للباحث تطوير طريقة ميدانية سريعة أو طريقة تحليل النسبة المئوية للتثبيط فى الـ Elisa المتنافسة ممثلة فى مقابل لوغاريتم المادة محل التقدير بالنانوجرام / ملليلتر . الرسوم من A الى C توضح المنحنيات القياسية لمادة التحليل فى محلول المنظم فى مقابل واحد أو اكثر من منحنيات المركب والـــتى اجريت مباشرة فى المادة البيئية أو مستخلصات هذه المادة . الشكل A يوضح تحليل مبيد الباراكوات فى سيرم الماشية . هذه النتائج توضح ان اكثر من ٣٣ ٪ سيرم (أو الليمف) يمكن تحليلها للكشف عن الباراكوات بدون تغيير المنحنى القياسى . ويمكن تحليل كميات كبيرة من السيرم بعمل منحنى قياسى فى السيرم او باستخلاص الباراكوات من السيرم . وكان تركيز الانتيجين المغلف ١ ميكروجرام/ملليلتر ودرجة تخفيف الجسم المضاد ١ : ٤٠٠٠ . والشكل B يوضح تحليل الدايفلوبنزيرون (ديميلين) فى اللبن الخام ومستخلصات اللبن (الخطوط السادة) . تم استخلاص اللبن بمذيب الا يثايل اسيتات تبعا لطريقة AOAC المعروفة . وتوضح النتائج ان الجسم المضاد قادر على استخلاص الدايفلوبنزيرون من الكريات الموجودة فى اللبن بواسطة فعل الكتلة . ولقد ادى اتباع طرق الاستخلاص البسيطة المتنوعة بادخال الجسم المضاد المناسب الى زيادة حساسية التحليل بالمناعة . وأكثر من ٥٠ ٪ لبن اضيفت دون حدوث اختلافات معنوية فى المنحنيات القياسية . وكانت الاختلافات داخل التجربة نفسها فى حدود ٣ ٪ ووصلت ٥ ٪ بين التجارب وبعضها لعدة شهور . كان تخفيف الجسم المضاد ١ : ١٢٠٠ . الشكل (C) يوضح تحليل مبيد المولينييت فى عينات المياه من حقول الارز . وتم اضافة محلول PBS كمنظم لعينات المياه ثم عوملت بالمولينييت ولم تلاحظ اختلافات فى المنحنيات القياسية عندما كانت نسبة الماء فى العينات ٥٠ ٪ . ويمكن زيادة حساسية الطريقـــة باستخلاص المولينييـــت بخلات الايثايل او التولوين . ثم تركز المستخلصات ويؤخذ المولينييت فى البروبيلين جليكول ثم يضاف للجسم المضاد . ويمكن اضافة أكثر من ٥ ٪ بروبيلين جليكول مع الآليزا . وكان تركيز الانتيجين المغلف فى ميكروجرام /ملليلتر وتخفيف الجسم المضاد ١ : ٤٠٠٠ . والشكل (D) يمثل المنحنيات القياسية للتوكسينات المتبلورة للباسيللس التى اجريت فى مواد مجهزة . وتوضح النتائج امكانية استخدام طريقة التحليل بالمناعة للتحليل الكمى للبروتينات التى تمثل المواد الفعالة للمبيدات الحيوية ومواد الهندسة الوراثية . وتستخدم هذه الطريقة كوسيلة اضافة حيوية للكشف عن انتاج ومطابقة مواصفات المستحضرات . كان تركيز الانتيجين المغلف (ميكروجرام / ملليلتر وتخفيف

الجسم المضاد ١ : ٤٠٠٠ للبكتريا الاسرائيلية و ١ : ٨٠٠ لسلالة كورستاكى . والعديد من الطرق الطبيعية للتحليل تستخدم لتقدير المادة المرتبطة فى مقابل الحرة بما فيها جهاز قياس الوميض وقياس العكارة أو استقطاب الضوء او الأشعة المرئية أو الاشعة فوق النبفسجيية والطرق الاسبكتروفوتومترية بالالكترونات والعديد من الطرق الاخرى . وكل من هذه الطرق له مجالات مختلفة كثيرة .. وعلى سبيل المثال اذا تناولنا الطريقة الانزيمية المدعمة بتحليل المناعة « الاليزا Elisa » En-zyme linked immunosorbant فان هناك العديد من انواع او تحت اقسام « الاليزا » وتعطى اسماء مختلفة على العبوات مع ان الاساس واحد . ومن المؤسف ان امكانية تحقيق تحويرات كثيرة فى التكنيك ادى الى خلق تشويش على اساس الطريقة وتكنولوجياتها السهلة . واذا اكتسب شخص خبرة كبيرة فى مجال التحليل المناعى سيكون على دراية كافية بغيرها من المجالات الاخرى ، الا ان التسمية نفسها الخاصة بهذا التكنيك ما زالت تخوف وترعب الكثير من القائمون بالتحليل الكيميائى . وترجع جميع الاختلافات فى التحليل المناعى على التفاعل العكسى بين الجسم المضاد والمركب . ان تدبير جسم مضاد ممتاز يمكن من تجهيز واستخدام اى من الاصول الموجودة لتصميم طريقة تحليل مناعى للتقدير الكيفى والكمى للمركب محل الدراسة . والاقتراب من هذا الاتجاه فى التحليل يؤكد على الكيميائى الالتزام بمحددات نجاح الطرق الاخرى فيما يختص باخذ العينات وتداولها وتجهيزها وكذلك المفاهيم الاساسية للتحليل . والالمام بالتعريفات الثلاثة الآتية يمكن من اضافة الاصطلاح كيمياء المناعة الى مهمات القائم بالتحليل :

– الجسم المضاد Antibody احد اقسام بروتينات السيرم التى ترتبط مع الانتيجين .

– الجزئ المحفز Antigen الجزئ (عادة بروتين) الذى يحفز انتاج الاجسام المضادة ويرتبط بها .

– الهيباتين Hepatin المركب (غالبا جزئ صغير) الذى يرتبط بالاجسام المضادة ولكنه غير قادر لوحده على انتاج الاجسام المضادة .

*** الاستخدامات فى كيمياء المبيدات Application to pesticide chemistry :**

المميزات والحدود الخاصة بتكنولوجيا كيمياء المناعة المدونة فى الجدول رقم (١) تترجم الى بعض الاستخدامات الحالية فى كيمياء المركبات التى ستذكر فيما يلى :

*** تحليل المركبات التى يصعب تحليلها بالطرق التقليدية :**

من اوضح استخدامات كيمياء المناعة هو تحليل المركبات التى يصعب تحليلها بالطرق التقليدية . وكما هو معروف فان الكروماتوجرافى الغازى السائل GLC يستخدم بدرجة كبيرة مع المركبات المتطايرة (عادة كارهة للماء وصغيرة الوزن) والثابتة فى الحرارة والتى لها بعض الصفات التى تمكن من الكشف عنها بواسطة الكاشفات المتخصصة . والكروماتوجرافى السائل عالى الكفاءة

HPLC اقل تقييدا ولكنه مازال يعتمد على بعض الصفات المحددة للكشف . والمعايير المذكورة اعلاه ليست ضرورية لتحقيق نجاح التحليل المناعى ولو ان هناك اتجاه يوضح ان التكنيك يعتبر مكملا للتكنولوجيا الموجودة ويمكن استخدامه ككاشفات عالية الكفاءة « HLPC » . وكما هى العادة البشرية فانه لا يبدأ بتجربة التكنولوجيا الجديدة الا عندما تفشل التكنولوجيا الموجودة والمستخدمة فعلا ، ولسوء الحظ استخدم تكنيك التحليل المناعى فى البداية مع بعض مشاكل التحليل المستعصية . وفى معظم الحالات تفوق هذا التكنيك لدرجة اعتباره المنقذ Savior . ونود الاشارة الى انه لو قدمت طرق التحليل المناعى فى معمل به افراد غير مدربون جيدا لتحليل بعض المركبات المستعصية التحليل "night mare" (شديدة القدرة على التفاعل - صغيرة جدا - شديدة الحب للدهون - موجودة بمستويات قليلة جدا - يعوق ظهور المناعة) فان الفشل فى التقدير وعدم النجاح سيكون معوقا لهذه التكنولوجيا .

وفى معامل كاليفورنيا استخدم تكنولوجيا كيمياء المناعة لتحليل مجموعة من المركبات التى يصعب تحليلها بالطرق الكلاسيكية .. ومثال ذلك : مركب الاليثيرين البيرثرويدى الذى يفتقر لوجود مجموعة يسهل الكشف عنها بالكروماتوجرافى الغازى السائل GLC والعالى الحساسية HPLC ، والمبيدات الحشرية من مجموعة الاسيل يوريا ومبيد الحشائش الباراكوات تتطلب اجراء خطوات عديدة قبل الكشف بالـ GLC مع ملاحظة ان طريقة الـ HPLC قليلة الحساسية جدا ، بينما مركب Triton-x غير متطاير ويصعب استخلاصه ويعطى منحنيات عديدة على الـ HPLC . ومن المؤكد ان التركيب والنشاط العالى لمركبات السلفونيل يوريا يوضح ان تكنولوجيا التحليل المناعى تصلح تماما لتقدير مثل هذه التركيبات .

* تمييز المشابهات والمركبات القريبة

Discrimination of chirality and closely related compounds

نظرا للتكاليف المتزايدة لمستلزمات التحليل والقيود الخاصة بالاعتبارات البيئية قد يقرر البعض ان المركبات التى تباع فى الاسواق قد تكون غنية فى المراكز النشطة ضوئيا او على صورة كيميائيات نقية . والمركبات الاخرى عبارة عن مخاليط راسيمية والتى يمكن ان تنهار بصور مختلفة فى البيئة . ومن ثم تصبح المقدرة على التمييز بين المشابهات الضوئية على مستوى المخلفات فى غاية الاهمية . فمركب الالثرين يتكون من ٨ مشابهات ضوئية وهندسية ومن اكثرها فعالية بيولوجية المشابهات I R, 3 R, 4 S . ولقد امكن تطوير نظام تحليل مناعى عالى التخصص لكل مشابه على حده مما يؤكد مقدرة هذه التكنولوجيا على التعامل مع المشابهات .

وفى مجال كيمياء المبيدات تقوم المعامل بتطوير مركبات ذات صفات طبيعية متماثلة وهذا هو الموقف مع الديميلين وغيره من المركبات الفعالة مثل Bay Sir 8514 . وتيطلب فصل هذه المركبات تجهيز عمود عالى الكفاءة جدا للـ HPLC . بينما امكن تطوير طريقة تقدير مناعى

يمكن من الكشف عن مجموعة هذه المركبات والتفرقة بين الديميلين وغيره من المركبات القريبة منه حتى التى ظهرت بعد تطوير هذه التكنولوجيا .

* تحليل سوائل جسم الانسان ومعلمات حيوية

Analysis of human body Fluids and as biomarkers

لتقييم درجة تعرض الانسان للسموم يصبح من الضرورى تحليل سوائل الجسم مثل البول والدم . وحيث اننا نتجه لايجاد علاقة بين التعرض والسمية توجه الاهتمامات المتزايدة الى تحليل المركبات الصلية ونواتج تمثيلها وعلامات التسمم فى الافراد الذين يتعرضون مهنيا او بيئيا . والتحليل المناعى يناسب التشخيص الاكلينيكى وتحقيق الحساسية العالية لهذا التكنيك تتطلب مواد حيوية تافهة وقليلة . وعلى سبيل المثال تستخدم طريقة المناعة لتشخيص التسمم بمبيد الباراكوات ، ولقد ثبت امكانية تقدير مخلفات المبيد مباشرة فى عينات الدم والبول والليمف باستخدام التحليل المناعى وبحساسية شدية تفوق جميع الطرق الاخرى المعروفة . وسرعة اجراء التحليل تتيح فرصة كبيرة لاجراء دراسات حركية الكيميائيات Pharmacokientic لتقييم خطورة التعرض المهنى للسموم .

* تحليل اعداد كبيرة من العينات Analysis of large numbers of samples

التحليل بالمناعة Immunoassay طريقة غاية فى السهولة وقليلة التكلفة مما يجعله اسلوب نموذجى لتحليل اعداد كبيرة من العينات . وهذا الوضع يجعل التحليل المناعى ملائما لاغراض تسجيل المبيدات وكذلك اختبارات النوعية ومطابقة المواصفات القياسية وتقدير المخلفات عندما يكون هناك شك فى وجود المركب . وعندما تستخدم الطرق التقليدية للتأكيد تفيد طريقة التحليل المناعى لتقليل السلبيات . وفى هذا المقام تطوير طريقة لتحليل مبيد الحشائش المولينييت " molinate " حيث ان هذا المركب مفيد جدا فى زراعات الارز ولكن اذا انفرد قبل الميعاد المطلوب سيؤدى الى قتل الاسماك . وساعدت هذه الطريقة فى تقييم ديناميكية وحركية المولينيت فى زراعات الارز بالرغم من العديد من العينات المطلوب تحليلها لتحقيق هدف الدراسة . ويوضح الشكل IC امكانية اضافة الماء المأخوذ من حقول الارز الى انابيب التحليل المناعى مما يمكن من تقدير درجات انفراد المولينييت فى الماء . وتوضح هذه النتائج امكانية تطوير طريقة التحليل المناعى لتقدير المركبات الصغيرة الحجم والمتطايرة والغير ثابتة . والتكنيك يطور بعد الاستخلاص بما يحقق حساسية عالية للكشف عن المخلفات . ولتحقيق التكامل او التنسيق بين استخدام المبيدات مع الاعتبارات الاجتماعية يصبح من الأهمية تطوير هذه المعلمات markers لتقدير التلوث البيئى بمستويات معينة من الملوثات . وتحليل وجود مبيدات الحشائش الذائبة فى الماء مثل الثيوكاربامات والـ 2, 4-D ومركب 2, 4, 5-T ذات اهمية خاصة فى برامج استكشاف تلوث الماء السطحى بينما التحليل السريع للتريازين ومركبات الاسيتانيليدات تعتبر مهمة فى برامج استكشاف تلوث الماء الارضى .

* **التحليل السريع او / و الميدانى Rapid and /or field analysis :**

تكلمنا قبلا عن امكانية احلال طريقة التحليل المناعى محل الطرق التقليدية فى تقدير المبيدات ونشير هنا الى ان هناك العديد من الاستخدامات لا تجرى بدقة الا بطريقة التحليل المناعى . وعلى سبيل المثال تقدير المولينيت يجرى بصورة سريعة جدا فى الحقل دون الحاجة لاية اجهزة او القليل فقط وهذا يمكن الفلاحون ومسئولى الزراعة من الكشف عن آثار هذا المبيد فى المياه قبل الصرف . ويفيد هذا التكنيك كذلك فى التأكد من وجود الكيميائيات السامة قبل معاودة دخولها او لاستكشاف الانتشار . وهذا الاسلوب فى غاية الاهمية خاصة مع المركبات شديدة السمية مثل الباراكوات والباراثيون . ومن الفوائد الاخرى الكشف عن وجود المبيد قبل زراعة النباتات الحساسة للتشوهات بمبيدات الحشائش المعينة كما فى حالة الترايزينات وكذلك السلفونيل يوريا . ويمكن للفلاحون استخدام هذا التكنيك للكشف عن الادوية البيطرية ومسببات الامراض الحيوانية والنباتية والمبيدات . وهذا يقدم إتجاه جديد فى مفهوم تحليل المخلفات باستغلال الامكانيات التى توفرها التكنولوجيا فى المكان الميدانى (الحقل) حيث التلوث . كما يقوم بها الفلاحون . وهذا الاسلوب مهم جدا لتجار الجملة حيث يهمهم اثبات ان المخلفات السامة فى المحاصيل قليلة للغاية ونفس الشئ لتجار المبيدات المشتركة فى برامج الاشراف على امان المخلفات .

* **تحليل نواتج بحوث التكنولوجيا الحيوية**

Analysis of products from research in biotechnology

حتى وقت قريب كانت معظم المركبات التى تستخدم فى البيئة ولا سباب اقتصادية عبارة عن جزيئات صغيرة نسبيا ذات تركيبات بسيطة . والتكنولوجيا الحيوية وبالتاكيد سوف تغير من هذا الوضع . وعلى سبيل المثال انتجت تكنولوجيا التخمر مركبى الأفيرميكتين Avermectin والإفيرمكتين Ivermectin بينما التوكسين الخارجى من بكتريا الباسيللس ثيورينجينسيز لم يؤخذ بعين الاعتبار فى المستحضرات الحالية . وهذه المواد شديدة التعقيد بدرجة تفوق المركبات العادية التى يمكن تحليلها باجهزة الكروماتوجرافى GLC أو HPLC . وبالتاكيد يمكن تحليل هذه المركبات بالوسائل التقليدية ولكن اسلوب التحليل المناعى يقدم مميزات كثيرة لتحليل هذه الجزيئات الضخمة والمعقدة .

الاهتمام العام فى المستقبل القريب لن يقتصر على نواتج التخمر ولكنه سيتعدى ذلك ليشمل المواد الناتجة من الهندسة الوراثية . ومن المؤكد ان معظم المركبات محل العناية ستكون تابعة للببتيدات والبروتينات . ولمثل هذه المركبات تكون طرق التحليل المناعى غير باهرة الفائدة . وفى العام الاخير امكن الكشف عن البروتين السام الذى تفرزه بكتريا BT فى النباتات . وما زالت شركة Monsanto تحاول اختبار نفس السم فى الحقل بياستخدام انواع قريبة من هذه البكتريا . وتمكن البحاث فى جامعة كاليفورنيا من تطوير طريقة تحليل مناعى لبللورات التوكسين الخاص

بسلالات BT الاسرائيلية ، وهذه الطرق تصلح للكشف عن جودة الانتاج ويمكن تحويرها لتقدير مخلفات المبيدات . وفى حالة ما اذا انفردت چينات غريبة فى البيئة يمكن بطرق التحليل المناعى الكشف عنها او نواتج تفاعلها مع البيئة ، وهذا يؤكد ان هذه الطريقة تعتبر مكملة للوسائل الوراثية التى تختص بالكشف عن الجين الحقيقى مما يزيد من فرصة نجاح منتجات الهندسة الوراثية . ومما لا شك فيه ان وسائل التحليل المناعى ستكون متوفرة وعلى الوكالات المعنية الوصول لكيفية استخدام هذا الاسلوب فى الكيمياء البيئية وكيفية اجراء تجارب ارشادية وتحقيق القبول الرسمى لهذه الطرق . ومن ثم يمكن تمثيل التحليل المناعى على انه حلقة متكاملة حيث لا يساهم الحصول على نواتج فعالة من التكنولوجيا الحيوية فقط وانما يساهم فى الكشف عن هذه المركبات ايضا .

* التوصيات Recommendations :

بالرغم من ان كيمياء المناعة ليست دواء لجميع الامراض اذا جاز التعبير Panacea الا انه لسوء الحظ انها لم تستخدم على نطاق واسع فى كيمياء البيئة خلال العشرون عاما الاخيرة . ومن المهم الاشارة الى اهمية ادخال هذه التكنولوجيا فى القطاعين العام والخاص . وهناك العديد من الشركات الخاصة الصغيرة تستثمر هذه التكنولوجيا وسوف تحقق دورا فى ادخال واستعمال الطريقة فى مجال مبيدات الآفات . واذا ما نجح التكنيك بكفاءة عالية يصبح فى الامكان تعميم الطريقة وانتشارها فى التحليلات الكيميائية .

* صلاحية التحليل بالمناعة Validation of immunoassays :

لكى تلقى طريقة التحليل بالمناعة القبول كطريقة تحليل يجب معاملتها فى البداية كما تعامل الطرق الاخرى وتقارن كفاءتها باى طريقة معروفة ومتداولة ، ومن الأهمية التأكد من مقدرة هذه الطريقة على التقدير الكمى وليس النوعى فقط . ولم تجرى هذه المقارنات للتأكد من صلاحية الطريقة لتقدير اى مركب من المبيدات حتى الآن . ولقد وجد Wie and Hammock (١٩٨٢) ان الفرق بين طريقة التحليل المناعى وتلك التى اجريت بالـ Elisa لمركب الدايفلوبنزيرون (٣ و ٥ ٪ على التوالى) ، كما تناول تأثير المادة الحيوية على التحليل المناعى . والآن توجد مقارنات بين كفاءة هذه الطريقة والطرق التقليدية الاخرى فى مجال المبيدات الفطرية ، ومثال ذلك مركبات البينوميل والميتاليكسيل والترايديمفون . ولقد اشار Emon ومعاونوه (١٩٨٦) الى ان الكروماتوجرافى الغازى السائل GLC والطرق اللونية لتقدير مبيد الباراكوات لا تختلف فى كفاءتها عن التحليل المناعى مع عينات التحليل الخاصة بتعرض العمال للمبيد ، بينما اشار Sedwable وآخرون (١٩٨٤) الى العلاقة الجيدة بين التحليل المناعى الانزيمى والتحليل المناعى الفلورينى مع مبيد الحشائش الدايكلوفوب – ميثايل . ويجب ان توجه الجهود للكشف عن مميزات تكنيك التحليل المناعى وتوضيح اهميتها فى الكشف عن المركبات البيولوجية وتلك الناتجة من الهندسة الوراثية والتى لا يوجد لها طرق تحليل طبيعية .

* ادخال التحليل المناعى معامل التحليل

Intorduction of Immunassays in the analytical laboratory

يجب ان يكون لدى الوكالات المعنية بمراقبة المبيدات ومنتجى هذه الكيميائيات خبراء فى مجال كيمياء المناعة اذا كان عليهم تقييم طرق التحليل المتاحة فى الهيئات الأكاديمية والقطاع الخاص . ويجب ان يعمل الخبراء بروح واسلوب الجماعة وتختفى من مفهومهم اية نزعات فردية . وعلى بعض هؤلاء الخبراء تفهم مشاكل المراقبة والتحليل الروتينى التى تجابه اى مركب بينما يتولى الاخرون مسئولية ادخال التكنولوجيا الحيوية فى الكيمياء . وبعض التوكسينات يسهل ارتباطها بالبروتينات بغرض التحليل ويقوم فريق ثالث بمهمة تذليل صعوبات النواحى الكيميائية وابتكار نواحى جديدة . وهناك هدف هام ومحدد يتمثل فى دراسات تحديد المواقع المتخصصة للارتباط بالجسم المضاد . والمطلوب إجراء العديد من الاختبارات او الاقترابات عالية التكلفة للغربلة بين صلاحية وكفاءة العديد من مضادات السيرم لتطوير طريقة تحليل مناسبة ومفيدة عندما تستطيع الكيمياء قليلة التكاليف حل المشاكل الداخلية . ومن هنا يتأخر وقت الحصول على طريقة تحليل مناعى مناسبة لوقت طويل نظرا للحاجة لتصميم وتخليق الهيبتاين المناسب hapten . ولو امكن تطوير هذه الإتجاهات فى المراحل المبكرة من تطوير المركب (المبيد) يصبح من السهل توفير الهيباتينات كمواد وسيطة مخلقة قياسية على صور مشابهات أو ممثلات .

ويعتبر الجسم المضاد antibody المكون المحدد للتحليل بالمناعة Immunoassay بصرف النظر عن التصميم . ومن المثير للدهشة انه فى المراحل المبكرة من هذا البرنامج كان الهدف هو انتاج الاجسام المضادة ، وقد تركزت كل المجهودات فى هذا السبيل . فلو امكن تجهيز الهيباتين Hapten الانتيجين Antigen بعناية يصبح من الممكن انتاج الاجسام المضادة بسهولة ويسر بواسطة العديد من الشركات المعنية بكيمياء المناعة دون اى فقد فى النوعية . وكما نوقش فى البداية بواسطة Hammock & Mumma عام ١٩٨٠ اتفق على ان الاجسام المضادة المتعددة الرجفان Poly clonal اكثر ملائمة وافضلية من الاجسام وحيدة الرجفان Monoclonal للعديد من التقديرات . وفى الماضى اعطت الاجسام المضادة المتعددة من الارانب طريقة تحليل اكثر حساسية مما اعطته طريقة الاجسام الوحيدة من الغنم ، وليس هناك ضمان من ان الاجسام الوحيدة تعطى اختبار اكثر تخصصا .

وليس هناك شك فى ان تكنولوجيا التهجين Hybridoma ستسود مجال التحليل بالمناعة فى السنوات القليلة القادمة للاسباب التجارية والعملية . وهناك مشاكل تحليل البيتيدات العديدة المسئولة عن احداث السمية من بكتريا الباسيللس ثيورينجينسيز حيث لا مفر من تكنولوجيا التهجين . ولقد تناقصت تكلفة انتاج الاجسام المضادة الوحيدة بسرعة خاصة فى المعامل التى تأخذ فى الاعتبار اقتصاديات العملية . ولقد اجرى استخدام العديد من السلالات المختلفة وراثيا من الفئران لابتداء المناعة وكان ذلك متبوعا بغربلة السيرم الخاص وادى هذا الاسلوب الى اثبات انه فى بعض الحالات كانت الاجسام المضادة الوحيدة اكثر حساسية من المتعددة .

وقبل اتخاذ قرار استخدام هذا التكنيك يصبح لزاما على البحاث تقدير مدى الحاجة للجسم المضاد الاحادى وعليه ان يطور طريقة غربلة سريعة لعزل الاجسام المطلوبة والتخلص من الغير مرغوبة . وعلى الباحث كذلك ان يتأكد من ان الأهمية الكبيرة القوية للتهجين تكنولوجيا تكمن فى تحقيق انتيسيرا متميزة .

وكما هو معروف فان الهيبتينات والليجاندس والاجسام المضادة تمثل الجواهر الكشافة للتحليل بالمناعة ولكنها يجب ان تتآلف فى طريقة تحليل . وهناك طرق عديدة ذات تركيبات مختلفة ولكن تزييف هذا التحليل يحتاج لبراعة فنية وخداع والفنيون اللذين يقومون بهدا العمل من الضرورى ان يكونوا من العاملون فى معامل التحليل التى تتناول هذه الطريقة . لأن هذا التكنيك يجب ان يستخدم فى مشاكل تحليل حقيقية . فى مراحل التطوير والتطبيق يمكن للفنى الخبير العمل فى النواحى التشخيصية الاكلينيكية مع ان المواد فى مجال التحليل والعوامل المحددة له تختلف كثيرا . لذلك يمكن تدريب المشتغل بكيمياء البيئة على اسلوب التحليل بالمناعة او يجرى تنسيق بين فردين يعملان بهذين الفرعين منفردين .

استراتيجيات اخذ العينات وطرق التنظيف وتداول النتائج وايا من العوامل الاخرى فى الكيمياء التحليلية لها نفس الاساس سواء استخدام تكنيك GLC-MS أو التحليل بالمناعة والكيميائى المختص بالتحليل يعتبر خير ضمان لنجاح التحليل بالمناعة .

* اختيار المركبات الاولية للتحليل

Selection of initial compounds for analysis

عند ادخال اية تكنولوجيا جديدة يكون من الاهمية بنجاح الاستخدام الاولى لهذه التكنولوجيا . لذلك فان الاختيار للمشكلة الاولى التى تتناولها طريقة التحليل بالمناعة من اهم العوامل المحددة . ومن الطبيعى ان عملية الاختيار تختلف من شركة او وكالة اخرى ومع هذا تظل المعايير عامة مأخوذة فى الاعتبار . والمركب يجب ان يكون متوسط الذوبان فى الماء على الاقل ولا يجب ان يكون معروفا عنه الالتصاق او المسك على السطوح او مواد التحليل . والمركب يجب الا يكون متطاير وثابت فى الماء . وعلى الشخص المسئول عن التحليل الالمام بالمواصفات الطبيعية والكيميائية وعلى الاقل يسهل تداول مادة او وسط واحد من اوساط التحليل .

وبالتأكيد يجب ان يمثل المركب اهمية للباحث وليس ان يمثل اهم مشكلة من المشاكل التى تجابه الفريق البحثى . ويجب ان يكون عدد التحليلات للمركب الواحد كبيراً . اذا كان من الممكن ان تستخدم بيانات التحليل اولا فى داخل المعمل الذى تحصل عليها يمكن تجنب الاحباط والتأخير فى قبول التكنيك فى الوكالات الخارجية . ولدراسة صلاحية الطريقة الجديدة يجب ان يكون هناك طرق تقليدية جيدة ومعترف بها للمركب نفسه . ومن حسن الحظ ان العديد من الجهات والمعامل فى المجالات الصناعية وغيرها اصبحت تستجيب لأصداء هذا التكنيك الجديد .

R eferences قائمة المراجع

1 . B.D. Hammock and R. O. Mumma, Recent Advances in Pesticide Analytical Methodology, p. 321. American Chemical Society Publications, Wahsington D. C. (1980).

2 . S. I. Wie. A. P. Sylwester, K. D. Wing and B. D. hammock. J. Agric. Food Chem. 30, 943-948 (1982).

3 . S. I. Wie and B. D. hammock, J. Agric. food Chem. 30, 949-957 (1982).

4 . S. I. Wie and B. D. hammock, J. Agric. food Chem. 32, 1294-1301 (1984).

5 . M. M. kelley, E. W. Zahnow, W. C. petersen and S. T. Toy, J. Argic. Food Chem. 33,k 962-965 (1985).

6 . A. I. Aronson, W. Beckman and P. Dunn, Microbiol, Rev. 50, 1-24 (1986).

7 . J. J. langone and H. Van Vunakis, Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. 10, 163-1717 (1975).

8 . S. I. Wie and B. D. Hammock, Anal. Biochem. 125, 168-176 (1982).

9 . K. D. Wing. B. D. Hammock and D. A. Wustner, J. Agric. Food Chem. 26, 1328-1333 (1978).

10. K. D. Wing and B. D. Hammock, Experientia 35, 1619-1620 (1979).

11. J. Van Emon, B. D. hammock and J. N. sEiber, Anal. Chem., 58 : 1866-1873 (1986).

12. D. Fatori and W. M. hunter, Clin. Chim. Acta 100, 81-90 (1980).

13. T. Levitt. Lancet 8033, 358 (1977).

14. Z. Niewola, S. T. Walsh and G. E. Davies. Int. J. Immunopharmac. 5, 211-218 (1983).

15. D. F. rinder and J. R. Fleeker, Bull. Environ. contam. Toxicol. 26, 375-380 (1981).

16. S. J. Huber and B. Hock, Z. Pflanzenkrankh, Pflanzenschutz 92, 147-156 (1985).

17. C. D. Ercegovich, R. P. Vallejo. dR. R. Gettig. L. Woods, E. R. Bogus and R. O. Mumma, J, Agric, Food Chem, 29, 559-563 (19981).

18. R. P. VAllejo, E. R. Bogus aqnd R. O. Mumma, J. Agric, Food Chem. 30, 572-580 (1982)

19. K. W. Hunter and D. E. Lenz. Life Sci. 30, 355-361 (1982).

20. A. A. Brimfield, D. E. lenz. C. Graham and K.W. Hunter, Jr., J. Agric. Food Chem. 33, 1237-1242 (1985).

21. S. I. Wie, R. E. Andrews, Jr., B. D. Hammock, R. M. Faust and L. A. Bulla, Jr., Appl. Environ. Microbiol. 43, 891-894 (1982).

22. S. I. Wie, B. D. Hammock, S. S. Gill. E. Grate. R. E. Andrews, Jr., R. M. Faust, L. A. Bulla. jr. and C. H. Schaefer, J. Appl. Bacteriol. 57, 447-454 (1984).

23. P. Y. K. Cheung and B. D. Hammock, Current microbiol, 12, 121-126 (1985).

24. P. Y. K. Cheung and B. D. Hammock, Appl. environ. Microbiol, in press.

25. T. R. Roberts, Trends Anal. Chem. 4, 3-7 (1985).

26. J. M. Van Emon, J. N. Seiber and B. D. Hammock, Bioregulators for Pest Control. p. 307, American chemical Society Publications, Washington D. C. (1985).

27. W. H. newsome and J. B. Shields, J. Agric. Food Chem. 29, 220-222 (1981).

28. W. H. Newsome, J. Agric. Food Chem. 33, 528-530 (1985).

29. W. H. Newsome, Bull. Environ. Contam. Toxicol. 36, 9-14 (1986).

30. M. Schwalbe, E. Dorn and K. Beyermann, J. kAgric, Food Chem. 32, 734-741 (1984).

31. j. Vinas, Pure & Appl. Chem. 57, 577-582 (1985).

32. R. M. Roe, P.Y.K. Cheung, B. D. hammock, D. Buster and A. R. Alford, Bioregulators for Pest control. p. 279, American Chemical Society publications, Washington D. C. (1985)

الفصل الثامن عشر

– التقييم المناعى للكيميائيات الزراعية :

* مقدمـــــة
* الانجــازات
* المنتجات التجارية .
* النقاط المثيرة للمشاكل .
* الآفـاق المستقبلية .
* قائمة المراجع



التقييم المناعى للكيميائيات الزراعية

Immunological assays for Agrochemicals

مقدمـــة Introduction :

هناك حاجة ملحة لايجاد طرق بسيطة قليلة التكاليف ذات كفاءة عالية لتقدير الكيميائيات الزراعية وغيرها من المواد الغريبة نظرا لزيادة تكاليف التحليل وتعاظم دور الاعتبارات البيئية . وتقدم طرق التقدير المناعى هذه المطالب والمميزات . وتستخدم هذه الطرق بشكل روتينى فى المعامل لتقدير الجزيئات الصغيرة كالهورمونات والادوية . ونظرا لبساطة الطرق المناعية اصبحت شائعة فى عيادات الاطباء الخاصة والمكاتب والمنازل . وسنحاول فى هذا المقال توضيح امكانية استخدام هذه الطرق فى تحليل وتقدير الكيميائيات الزراعية (مبيدات الحشائش – المبيدات الحشرية – المضادات الحيوية الممرضات النباتية – المواد الغريبة) والطرق المتاحة على نطاق تجارى ومستقبل التكنيك .

ولا يختلف التقييم المناعى عن اى تفاعل كيميائى اخر . فالجوهر الكشاف A يتفاعل مع البروتين B ليعطى المنتج AB . والبروتين B ما هو الا مادة مخلقة حيويا (الجسم المضاد) ذات خواص ارتباطية متميزة لارتباطها مع المادة A . تكوين الجسم المضاد عبارة عن عملية مزدوجة الاطوار .الاول يشمل الجزئ الصغير الذى يقدر (الهابتين Hapten) يثبط بجزئ المناعة الاكبر كثيرا بمادة البروتين . والناتج يحقن فى عائل حيوانى الذى حمل استجابة مناعية تتمثل فى تخليق اجسام مضادة ذات صفات مختلفة (متعددة الانقسام) بعضها موجهة ضد الهابتين . وفى المقابل يمكن تطوير جسم مضاد وحيد الأوجه monoclonal متخصص باستخدام مزرعة خلايا فى الخارج In vitro مع طريقة الانتشار . والاجسام المضادة عبارة عن مواد عالية الدوام مما يمكنها من اظهار النشاط حتى بعد فترات طويلة من التخزين . ومن اول طرق التقييم المناعى للكيميائيات الزراعية تلك التى طورها Langone and vunakis عام ١٩٧٥ لمبيد الديلدرين . ولقد اختبر حديثا الجسم المضاد للديلدرين واثبت ارتباطا قويا مع الديلدرين بعد ١١ سنة من التخزين (المرجع الثالث) .

وبالرغم من ان طرق التحليل تختلف فيما بينها الا ان كل طريقة تتميز بتكوين معقد خاص من الهابتين مع الجسم المضاد . وهذا يمكن التأكد منه بقياس الانواع او المركبات الغير متفاعلة بدرجة تعتمد على تصميم التقييم . وبذلك يتضمن التقييم المناعى خطوتان : تحضين اولى للجسم المضاد مع المركب الكيميائى تحت الاختبار متبوعا بتفاعل ثانى لتقدير درجة تكون المركب الابتدائى . والتقييم المناعى المشع (RIA) يتضمن ادخال المادة المشعة (الايدروجين ٣ ، الكربون ١٤ ، اليود ١٢٥) فى الجوهر الكشاف المماثل تماما للهابتين مما يمكن ويسهل من تقديره كميا . ومن الممكن استخدام التقييم المناعى الانزيمى المدموج مع الجسم المضاد المشع حيث يرتبط الانزيم مع الاجسام المضادة الموجهة ضد الهابتـــين . والانزيمات البيروكسيديز Horseradish

والفوسفاتيز القلوى من اكثر الانزيمات استخداماً حيث ترتبط مع الجسم المضاد الثانى . والاجسام المضادة للهابتين Anti-hapten التى لم ترتبط بعد التحضين مع العينة مسموح لها ان تكون معقد مع الهابتين وتتحول الى حامل بروتينى يدمص على وسط صلب (تقييم غير متجانس) . ودرجة هذا الارتباط تقدر بالاضافة المتتابعة لمعقد الانزيم مع مضاد الجلوبيولين المعلم والوسط الملون ثم يقدر ناتج التفاعل بطريقة سبكتروفوتومترية ضوئية . ويطلق على هذا النوع من التقييم بالـ Eli-sa اى بطريقة التقييم الانزيمى المرتبط بالمناعة وهى تتطلب فى الغالب ٢٤ ساعة لاعطاء بيانات كمية . اما الطرق الوصفية الغير متجانسة تستغرق عدة دقائق فقط . وحديثا امكن تطوير طرق تقييم متجانسة للكيميائيات الزراعية تتطلب عدة ثوانى قليلة لاتمام التقدير .

الانجازات Accomplishments :

لتوضيح الانجازات يكفى ان نشير وباختصار الى البحوث المنشورة وسيتأكد القارئ مدى الانجازات العظيمة فى صناعة الكيميائيات الزراعية ولكن هذه النجاحات لم وربما لن تنشر . والجدول رقم (١) يوضح الكيميائيات التى طور لها تكنيك التقييم المناعى موضحا فيه الحدود الدنيا للتقدير ونوع الجسم المضاد وطريقة التحليل ومصدر المرجع ويتضمن الجدول العديد من الهرمونات النباتية والمادة الغريبة دايوكسين وجميع هذه المواد ذات اهمية زراعية .

وهناك اعتبارات هامة فيما يتعلق بمستويات المضادات الحيوية التى قد توجد فى اللحوم والمنتجات الغذائية . والمضادات الحيوية يصعب تقديرها بالوسائل الكلاسيكية وقد امكن تطوير طرق تقييم مناعى لعدد من المنتجات (جدول ٢) ولقد قامت بعض الشركات بعمل طرق لبعض المضادات الحيوية التى تنتجها وسهلت من مهمة استخدام هذه الطرق على النطاق المنزلى والآن يتوفر فى الاسواق العديد من مجموعات التشخيص على النطاق التجارى . ومن المعروف ان الممرضات النباتية تسبب خسارة كبيرة تقدر بملايين الدولارات ومن هنا تتمثل اهمية الكشف المبكر وتعريف هذه المسببات فى اتخاذ القرارات الخاصة بالسيطرة على الآفات IPM) . والمسببات المرضية ذات برونينات متميزة المواصفات و / أو تركيبات انتيجينية خاصة يمكن تقديرها خلال الطرق المناعية والجدول (٣) يوضح بعض المسببات المرضية التى تم تطوير تقييم مناعى لها .

المنتجات التجارية Commercial products :

اظهرت العديد من الشركات اهتماما كبيرا بالتشخيص المناعى ولكن قليل منها تمكن من تطوير منتجات تجارية فى هذا المجال . ومن الواضح ان المؤسسات الصناعية تفضل ايجاد طرق تقييم مناعى للمركبات التى تنتجها ويكون استخدامها قاصرا على المهام الداخلية فى الشركات المنتجة ومن المؤسف عدم وجود رغبة لديها لتسويق المنتجات التشخيصية . وفى الوقت الحالى قامت شركتان بتسويق مجاميع اختبار بينما الشركات الاخرى تقوم بتطويرها .

وتقوم شركة .Idetek, Inc في سان برونو بالولايات المتحدة الامريكية بتسويق الاجسام المضادة الوحيدة "monoclonal" للتقدير الكمى لبعض الهورمونات النباتية مثل الاندول - ٣ - اسيتيك آسيد ميثيل استر ، حامض الابسيسيك ، ريبوسيد الزياتين ، الديهيدرو زياتين ريبوسيد (المرجع رقم ٧) . وهذه الطرق الانزيمية المناعية Elisa تتمكن من تقدير كميات فى حدود ٠٢ - ٠,٥ مول/١ ، ملليلتير للمركبات الثلاثة الاخيرة . اما المركب اندول - ٣ - آسيتيك آسيد ميثيل استر يقدر فى حدود ٥ر - ١٠٠ مول /١ ملليلتر . وفى هذا الخصوص لا يرتبط الجسم المضاد بالحامض الحر ولكنه يرتبط فقط بالاستر . وهذا الجسم المضاد الوحيد الأوجه لا يتميز بدرجة عالية من التخصص لحلقة الاندول ولكن يبدوا ان لها ميل تخصصى للسلسلة والقنطرة التى تربط البروتين الحامل مع الهابتين .

ولقد قامت مؤسسة .Granite Division-Environmental Diagnostics Inc في ولاية برلنجتون بامريكا بتسويق وحدات اختبار للكشف عن الكيميائيات الزراعية على صورة شرائط سريعة Quick-cards مع الجواهر الكشافة (الجسم المضاد والاوساط اللازمة للانزيم) . وتحتوى الشرائط على جوهر كشاف يغير اللون فى حالة وجود المركب الكيميائى تحت الاختبار . وهذا الاسلوب يتطلب عدة دقائق فقط ويعتبر شبه كمى Semi-quantitative ويوضح ما اذا كانت العينة تحتوى على مستوى اعلى من الحد المعين وليس كميته بالضبط . ونظر لبساطة وثبات طريقة الشرائط يمكن استخدامها بشكل واسع لاختبار الكشف الروتينى على عدد كبير من العينات . وفى الوقت الحالى توجد هذه الشرائط فى الاسواق للكشف عن المبيدات الباراكوات والباراثيون وكذلك عن ستة مضادات حيوية (كلورأمفينيكول - جنتاميسين - نيومايسين - سلفا ميثازين - سلفا داى ميثوكسين والتيلوسين) وكذلك الترايتون اكس - الافلاتوكسين وصلصة فول الصويا .

وبالرغم من ان مؤسسة .Immunosystems Inc بولاية بدفورد بامريكا لم تسوق بعد من المنتج الخاص بها الا انها طورت طرق تقييم مناعية متماثلة للعديد من الكيمائيات الزراعية (مرجع ٣) . وتعتمد هذه الطرق على التكنيك المعروف EMIT الذى يقيس تأثير ارتباط الجسم المضاد على نشاط الانزيم (جلوكوز - ٦ فوسفات ديهيدروجينيز) المرتبط بروابط مع الهابتين . عندما يرتبط الجسم المضاد بمعقد الانزيم والهابتين يحدث تناقض لمعدل التفاعل الانزيمى بدرجة تتناسب مع كمية الارتباط . ولو حدث تحضين لتجهيز الجسم المضاد فى البداية مع العينة المحتوية على المركب الكيميائى سوف يحدث ارتباط لبعض الاجسام المضادة بالهابتين الحر ومن ثم يصبح بعيدا عن متناول الارتباط بمعقد الانزيم والهابتين . وفى هذا الاسلوب يمكن قياس تركيز المادة الزراعية الموجودة فى العينة . والتحليل يتم فى غاية السرعة (١٥ - ٤٥ ثانية) كما ان له القدرة على تكرار تمثيل النتائج Reproducible ، كما انه يمكن من التغلب على بعض المشاكل الصعبة فى عمليات التحليل مثل الارتباط بالجدر والغسيل المرتبطة بطرق التقييم الغير متجانسة . وحيث ان تكنيك EMIT تتطلب توفر اسبكتروفوتومتر لتقدير معدل التفاعل فان جميع الخطوات تقريبا تكون آلية .

وهناك العديد من مجموعات التقييم او التشخيص المناعى لعدد من الممرضات النباتية تحت التطوير . وهذه المواد لم تصمم بهدف البحث العلمى ولكنها استهدفت الاسهام فى الصناعات الخاصة بالبستنة والحشائش النجيليـــــة والفاكهة . ولقـــــد قامت مؤسسة التشخيص الزراعية Agri- Assoc. dianostics بالولايات المتحدة الامريكية وحدات متكاملة للكشف عن ثلاثة مسببات مرضية لأعشاب وحلبات السباق هى فطريات البياض واللفحة والتبقع البنى عن طريق تطوير اسلوب الانزيم المناعى Elisa والاجسام المضادة وحيدة الأوجه . ولو تضافرت انشطة ومجهودات الشركات فى تسويق هذه المنتجات لأصبح واضحا وملموسا تواجد طرق سريعة للكشف عن المسببات المرضية .

النقاط المثيرة للمشاكل Probelm areas :

يتطلب تطوير الاجسام المضادة المتخصصة مع الهيباتين خطوتان رئيسيتان : الاولى يتمثل فى الازدواج Coupling للجزئ الحامل للانتيجين بالهيباتين من خلال القنطرة ، والثانى نظام حقن الحيوان لزرع الاجسام المضادة . وكلا الخطوتان قد يختلفان فى مدى الملاءمة لانتاج الجسم المضاد ضد التناسق الجزيئى الخاص . ومن الثابت ان بعض الجزيئات الحاملة للجينات المناعية (مثل البيومين سيرم البقر - الهيموسيانين - والبيومين البيض) اكثر ملاءمة عن غيرها عندما ترتبط بالهابتين الخاص المتميز . إن استخدام مجموعة القنطرة المتخصصة (التركيب الكيميائى - الطول والوضع الهندسي) التى تربط الهابتين بالجزئ الحامل الاكبر تحدد التوجيه الخاص للهابتين للمادة الحاملة ومن ثم يتأثر تنظيم وتمييز الجسم المضاد للهابتين . والجسم المضاد للاندول آسيتيك آسيد على سبيل المثال تبدو ذات تخصص عالى لا ستر الميثيل عنه مع الحامض الحر موضحا ان تميز وتنظيم تركيب القنطرة فى غاية الاهمية . وفى بعض الحالات وخلال تطوير طريقة التقييم المناعى للديوكسين فان الاجسام المضادة المتخصصة للقنطرة قد تزال بدون التأثير على التخصص للهابتين . ان نظام وبروتوكول الحقن وعدد وحدات حقن المناعة ووقت جمع السيرم بعد الحقن تغير من حساسية وتخصص الاجسام المضادة .

التقييم المناعى الغير متجانس فى غاية التعقيد ويحتاج لوقت طويل ويختلف من فرد لآخر . وفى هذه الطرق يجب ان تدمص الجزيئات على وسط صلب عادة كريات البولى استيرين وصفائح الحجوم الدقيقة ، كما يجب ان تزود بالمواد الناشرة ، ان تستخدم بتركيزات مناسبة ، ان يسمح لها بالتفاعل خلال الفترات المحددة سلفا . ونظرا للعديد من الخطوات اليدوية والغير متجانسة فى المعامل فان النتائج قد تختلف . وحتى نستطيع مد زيادة كفاءة تكرار تمثيل النتائج وتقصير وقت التحليل لا نتوقع تطوير طرق مناعية على نطاق واسع هذا الخصوص .

يجب استغلال اسلوب الخلايا فى الخارج In vitro لانتاج الاجسام المضادة حيث ان تجهيز الجسم المضاد المتميز الخاص مطلوب لتوفير الوحدات التشخيصية على النطاق التجارى . حيوانات التجارب تنتج اجسام مضادة ذات تركيزات وتخصصية مختلفة خلال دورة المناعة . وعلى الجانب

الاخر انه بمجرد تطوير وعزل خط خلوى مناسب يصبح فى الامكان توفير كميات غير محدودة من الجسم المضاد كلما كانت هناك حاجة اليها . واستخدام التكنيك المضاد السيرم المتعدد التكاثر لا يجب ان يرفض ، وبدلا من ذلك يجب تقييم الاسلوب المتوفر لبيان اى مصدر من الاجسام المضادة يعطى افضل النتائج . والاجسام المضادة وحيدة الأوجه تحقق ثوابت منخفضة ومن ثم تكون غير مناسبة فى بعض التطبيقات .

ربما تكون الصعوبات التى تؤثر على تجارة الكيميائيات الزراعية سببا فى اقتناع الصناعة باهمية تسويق الطرق التشخيصية للتقييم المناعى . وتطوير وحدات تجارية للاختبارات مكلفة جدا ولكن التقييم المناعى لن يصبح طريقة روتينية حتى تسوق هذه الوحدات تجاريا . ولسوء الحظ ان معظم طرق التقييم تطور فى المعامل الاكاديمية ولكنها لم تصل للمستوى التجارى .

الآفاق المستقبلية Future thrusts :

سنوضح فى هذا المقام رأينا الشخصى فى مستقبل طرق التقييم المناعى للكيميائيات الزراعية بناء على تحفظاتنا السابقة . ونحن نتوقع توسع كبير لاشراك هذه الطرق فى المجالين الاكاديمى والصناعى للكشف عن الكيميائيات ومسببات الامراض الاكثر حساسية فى البيئة وجميع الاطراف فى حاجة الى استخدام التقييم المناعى للتعامل مع المشاكل البيئية لتأكيد صلاحية هذه الطرق . وسيزداد استخدام هذه الطريقة المدمجة مع الانزيم وكذلك الاعتماد على طريقة التقييم المتجانس نظرا لكفاءتها العالية فى تكرار تحقيق النتائج وقصر وقت اجرائها . ويمكن دمج وتكامل طريقة التقييم المناعى مع غيرها من طرق التحليل الاخرى . والاجسام المضادة المرتبطة بالمادة الحاملة المدعمة الصلبة يمكن استخدامها كاعمدة لتركيز المبيدات من الحجوم الكبيرة من الماء . والمبيد قد يزاح ويقدر بالوسائل الكروماتوجرافية . كما ان الاعمدة الكبيرة يمكن ان تستخدم لتنقية الماء من الملوثات البيئية الغير مرغوبة . وربما ان احسن طريق لقبول الطريقة المناعية لتحليل المبيدات هو اثبات كفاءتها للكيميائيون المعنيون بالتحليل فى اتجاه التأكيد على انها وسيلة مكملة ومدعمة للطرق التقليدية المتاحة وليست بديلا لها .

نتوقع كذلك استخدام مكثف للاجسام المضادة وحيدة الأوجه وكذلك استخدام الاجهزة المختصة . استخدام التقييم المناعى يتطلب اجهزة بسيطة او لوحات الالوان خاصة فى الدول الاقل تقدما حيث ان هذه الدول تعانى نقصا فى الافراد المدربون وامكانيات التحليل بالمقارنة بالدول النامية . ومن ثم يصبح من المتوقع قبول التقييم المناعى نظرا لانخفاض التكلفة وسهولة اجراء العملية .

ولقد طورت طرق التقييم المناعى لتحليل توكسينات البكتريا من سلالات الباسيللس ثورينجينسس التى تستخدم لمكافحة الحشرات التابعة لرتب حرشفية الاجنحة وذات الجناحين (المرجع ١٥) . ومازالت تحت الاختبار والتطوير مع المبيدات ذات الجزيئات الناتجة من الاصول الحيوية . حيث ان هذه الجزيئات يصعب تقديرها بالطرق التقليدية مثل الكروماتوجرافى الغازى السائل ولكنها

تتلاءم تماما مع طرق التقييم المناعى . والطرق التكنولوجية الحيوية تسمح بادخال هذه التوكسينات فى النباتات وغيرها من الكائنات الحية . وستكون طريقة التقييم المناعى طريقة الاختبار للكشف عن هذه المركبات الجديدة وتقييم ضرر هذه الوسائل الحديثة .

مما لا شك فيه ان معامل التحليل مشغولة كثيرا بتقدير مستوى مخلفات الكيمائيات الزراعية والمركبات الغريبة نظرا للحاجة الملحة من قبل العامة للتحكم فى مواصفات البيئة . ولسوء الحظ ان طرق التحليل الكلاسيكية مكلفة للغاية وتحتاج لوقت كبير ومحددة التطبيق فى عدد قليل من المعامل كما انها تتطلب اشخاص على درجة عالية من التدريب وتحتاج اجهزة عالية التطور . وعندما تصبح طريقة التقييم المناعى عملا روتينيا وسريعا وقليل التكاليف سنرى تزايد كبير فى تحليل عينات بيئية . وهذا التزايد مرهون بمدى اهتمام الوكالات المعنية بشئون البيئة بتطوير وتعميم اسلوب التقييم المناعى للكشف عن الملوثات المختلفة .

جدول (١) : الكميائيات الزراعية التى طور لها طرق التقييم المناعى

المادة الكيميائية	حدود التقدير	مضاد السموم المتعدد	الطريقة	المرجع
Abscisic acid	66 pg	P	RIA	4
	13 pg	P	ELISA	5
	4 pg	M	RIA	6
	5 pg	M	ELISA	7
Aldicarb	5 ng	P	EMIT	3
Aldrin	700 pg	P	RIA	2
Aflatoxin	0.5 ng	P	ELISA	8
2-aminobenzimidazole	100 pg	P	Fluorometric	9
Atrazine	215 pg	P	ELISA	10
BAY SIR8514	9.6 ng	P	ELISA	11
Benomyl	0.1 ng	P	Fluorometric	9
	1.25 ng	P	RIA	12
S- bioallethrin	1 ng	P	Immunodiffusi	13, 14
Bacillus thuringiensi	0.5 ng	P	ELI SA	٥٥
subs. kurstaki	105 ng[a]		ElLISA	15
subs. berliner	220 ng[a]	P	ELISA	15
2-(Chlorophenyl)-isovaleric acid	2 ng	P	RIA	19
chlorsulfuron	0.1 ng	P	ELISA	20
Cypermethrin	---	---	---	21
2,4-D	13 ng[a]	P	RIA	22
	2.5 ng	P	EMIT	3
Diclofop-methyl	20 ng	P	ELISA	23
	10 ng	P	Flouorometric	23
Dieldrin	150 pg	P	RIA	2
	10 ng	P	EMIT	3
Diflubenzuron	3.9 ng	P	ELISA	11

(تابع جدول – ١)

المرجع	الطريقة	مضاد السموم المتعدد	حدود التقدير	المادة الكيميائية
7	ELISA	M	7 pg	Dihydrozeati n rilboside
24	RIA	P	4 ng	Dimethylallyl-adenineriboside
24	RIA	P	1 ng	Dioxin
25	RIA	P	25 pg	
26	ELISA	M	1 ng	
26	RIA	P	2 pg	Gibberellic acid
27	ELISA	P	0.01 ug	Gypsy moth nuclear polyhedrosis virus
28	RIA	P	200 pg	
29	RIA	P	94 pg	IAA methyl ester
30	ELISA	P	3 pg	
31	RUA	M	94 og	
31	ELISA	M	94 pg	
7	ELISA	M	200 pg	
32	ELISA	P	0.2 ng	
33	ELISA	M	6-100 ppb	Iprodione
34	ELISA	M	6 ppb	Maleic hydrazide
35	ELISA	P	63 pg	
12	RIA	P	125 ng	Metalaxyl
36	ELISA	P	275 ng	Methyl-2-benzimi-daxole carbamate
37	ELISA	M	1 ug	Paraoxon
38	RIA	P	10 ng, o.1 ng	
39	RIA	P	0.5 ng	Paraquat
40	ELISA	P	0.1 ng	
41	RIA	P	4 ng	
43	ELISA	P	7.8 ng	Parathion
44	RIA	P	20 ng	
44	ELISA	P	20 ng	
8	ELISA	P	2.5 ng	

المرجع	الطريقة	مضاد السموم المتعدد	حدود التقدير	المادة الكميائية
11	ELISA	P	6.8 ng	Penfluron
21	---	---	---	Permethrin
8	ELISA	P	10 ng	Soluble soy
45	ELISA	M	---	Surflan
46	ELISA	P	4.8 ng	Terbutryn
47	ELISA	P	1 ng	Triadimefon
22	RIA	P	3.3 ng[a]	2, 4, 5-T
48	RIA	P	15 pg	Zeatin riboside
7		M	7 pg	
49	RIA	P	100 pg	Zeranol

[a] Sensitivity expressed as I_{50}.

جدول (٢) : قائمة جزئية بالمضادات الحيوية التى طور لها طرق التقييم المناعى .

المرجع	الطريقة	مضاد السموم المتعدد والوحيد	حد التقدير	المضاد الحيوى
50	RIA	P	10 pg	Chloamphenicol
8	ELISA	P	5 ng	
8	ELISA	P	10 ng	Gentamicin
51	RIA	P	0.02 units	Hygromycin 8
8	ELISA	P	10 ng	Neomycin
52	---	---	---	Penicillin G
8	ELISA	P	10 ng	Sulfadimethoxine
8	ELISA	P	10 ng	Sulfamethazin
8	DELISA	P	10 ng	Tylosin

جدول (٣) : قائمة جزئية للمرضات النباتية التى طورت لها طرق التقييم المناعى .

المرجع	المسبب المرضى	المرض النباتى
53	Rhizoctonia	Brown Patch
53	Sclerotinia homoeocarpa	Dollar Spot
53	Phythium spp.	Pythium Blight
54		Tobacco Ringapot Virus

قائمة المراجع

1 . B. D. Hammock and R. O. Mumma, ACS Symposium Series 136, 321-352 (1980).

2. J. J. Langone and H. VanVunakis, Res. commun. Chem. Pathol. pharmacol. 10, 163-171 (11975).

3. B. S. Ferguson, Sixth Int. congrelss of Pesticide Chemistry, Poster Session (91986).

4. E. W. Weiler, Planta 144, 255-263 (1979).

5. E. W. Weiler, Physiol. Plant. 54, 510-514 (1982).

6. R. Mertens, B. Deus-Neumann and E. W. Weiler, FEBS Lett., 160, 269-272 (1983).

7. Idetek, Inc., San Bruno, CA 94066 USA.

8. Granite Division - Environmental Diagnostics, Inc., Burlington, NC, USA.

9. H. R. Lukens, G. B. Williams, S. A. Levinson, W. B. Dandliker and K. Murayama, Environ. Sci. Technol. 11, 292 (1977).

10. S. J. Huber, Chemosphere 14, 1795-1803 (1985).

11. S. I. Wie and B. D. Hammock, J. Agric. Food Chem. 30, 949-957 (1982), 32, 1294-1301 (1984).

12. W. H. Newsome and J. B. Shields, J. Agric. Food Chem. 29, 220-222 (1981).

13. K. D. Wing, B. D. hammock and D. A. Wustner, J. Agric. Food chem. 26, 1328-1333 (1978).

14. K. D. Wing and B. D. Hammock, Experientia 35, 1619-1620 (1979).

15. S. I. Wie, B. D. Hammock, S. S. Gill, E. Crate, R. E. Andrews, Jr., R. M. Faust, L. A. Bulla, Jr. and C. H. Schaefer, J. Appl. Bacteriol. 57, 447-454 (1984).

16. S. I. Wie, R. E. Andrews, Jr., B. D. Hammock, R . Faust and L. A. Bulla, Jr., Appl. Environ. Microbiol. 43, 891-894 (1982).

17. P.Y.K. Cheung and B. D. hammock, Current Microbiol. 12, 121-126 (1985).

18. P.Y.K. Cheung and B. D. hammock, Appl. Environ. Microbiol., in press.

19. M. M. kelley, E. W. Zahnouw, W. C. Peterson and S. T. Toy, J. Agric. Good Chem. 33, 962-965 (1985).

20. J. Ohnishi, Y. Nishikawa, Y. Suzuki, T. Matsuda and J. Miyalmoto, Sixth Int. Congress of Pesticide Chemistry, Poster Session (1986).

21. M. J. Wraith, E. J. Hitchings, A. P. Woodbridge, E. R. Cole and T. R. Roberts, Sixth Int. congress of Pesticide Chemistry, Poster Session (1986).

22. D. F. Rinder and J. R. Fleeker, Bull. Environ. Contam. Toxicol. 26, 375-380 (1981).

23. M. Schwalbe, E. Dorn and K. Beyerman, J. Agric. Food Chem. 32, 734-741 (1984).

24. W. DeCreef, N. Dekegel and R. Hjamers, Arch. Internat. de Physiologie et Biochimie. 88, B134-B135 (1980).

25. P. W. Albro, M. I. Luster, K. Chae, S. K. Chaudhary, G. Clark, L. D. Lawson, J. T. Corbett and J. D. McKinney. toxicol. Appl. Pharmacol. 50, 137-146 (1979).

26. E. W. Weiler and U. Wieczorek, Planta 152, 159-167 (1981).

27. M. Ma, J. K. Burkholder, R. E. Webb and H. T. Hsu, J. Econ. Entomol. 77, 637-540 (1984).

28. W. Pengelly and F. Meins, Jr., Planta 136, 173-180 (1977).

29. E. W. Weiler, Planta 153, 319-325 (1981).

30. E. W. Weiler, P. S. Jourdan and W. Conrad, Planta, 153, 561-571 (1981).

31. R. Mettens, J. Eberle, A. Arnscheidt and E.W. Weiler, Planta 166, 389-393 (1985).

32. W. H. Newsome and P. G. Collins, Sixth Int. Congress of Pesticide Chemistry Poster Session (1986).

33. Maryland Agric. Exp. Sta. Annual Report (1985) Regional Project NE-115.

34. R. O. Harrison, A. A. Brimfield, K. W. Hunter, Jr. and J. O. Nelson, Sixth Int. Congress of pesticide Chemistry, Poster Session (1986).

35. W. H. Newsome, J. Agric. Food Chem. 33, 528-530 (1985).

36. K. W. Hunter and D. E. Lenz, Life Sci. 30, 355-361 d(1982).

37. A. A. Brimfield, D. E. Lenz, C. Graham and K. W. Hunter, J. Agric. Food Chem. 33, 1237-1242 d(1985).

38. D. Fatori and W. M. Hunter, Clin. Chim. Acta 100, 81 (1980).

39. T. Levitt, Proc. Analyt. Div. Chem. Soc. 16, 72-76 (1979).

40. J. Van Emon, B. D. hammock and J. N. Sieber, Anal. Chem. 58, 1866-1873 (1986).

41. C. D. Ercegovich, R. P. Vallejo, R. R. Gettig, L. Woods, E. R. Bogus and R. O. Mumma, J. Agric. Food Chem. 29, 559-563 (1981).

42. R. P. Vallejo, E. R. Bogus and R. O. mumma, J. Agric. Food Chem. 30, 572-580 (1982).

43. A. Y. Al-Rubae, Ph. D. Thesis, The Pennsylvania State University (1978).

44. J. F. Brady, M. S. Thesis, The Pennsylvania State University (1984).

45. A. H. Kuniyuki and S. McCarthy, Sixth Int. Congress of Pesticide Chemistry, Poster Session (1986).

46. A. U. Humber and S. J. Hock, J. Plant Dis. Prot. 92, 147-156 (1985).

47. W. H. newsome, Bull. Environ. Contam. Toxicol. 36, 9-14 (1986).

48. E. W. Weiler, Planta 149, 152-162 (1980).

49. J. P. Duchakel, Ann. Rech. Veterinaires 16, 93-97 (1985).

50. D. Arnold and A. Somogyl, J. Assoc. Off. anal. Chem. 68, 984-990 (1985).

51. M. A. Foglesong and D. S. LeFeber, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 65, 48-51 (1982).

52. P. Rohner and J. Nicolet, J. Food Prot. 48, 59-62 (1985).

53. AGRI-DIAGNOSTICS Assoc., cinnaminson, NJ, USA.

54. C. P. Romaine, S. R. Newhart and D. Anzola, Phytopathol. 71, 308-312 (1981).

55. J. Van Emon, J. N. Seiber and B. D. hammock, Sixth Int. Congress of Pesticide Chemistry Poster Session (1986).

56. M. Landerlaan, B. Watkins, R. Devivar and L. Stanker, Sixth int. Congress of pesticide Chemistry, Poster Session (1986).

57. P. W. Albro. K. Chae. M. Luster, J. D. McKinney, S. Chaudhary, G. Clark, J. Fawkes and J. Corbett, Environ. Health Persp. 20, 247 (1977).

58. B. D. Hammock, S. J. Gee, P. Y. K. Cheung. T. Miyamoto, M. H. Goodrow and J. N. seiber, Sixth Int. congress of Pesticide Chemistry, Poster Session (1986).

الفصل التاسـع عشـر

– تقدير مركب ايبروديون فى الاغذية باستخدام طريقة التحليل المناعى الانزيمى :

* المقدمـــــة
* الطـــــرق
* الجسم المناعى
* مضادات البلازما
* الحســـاسـية Plate sensitization
* تحضير العينة
* بروتوكول التحليل المناعى
– التحليل الكروماتوجرافى .
* تحضير العينة .
* العمود الكرماتوجرافى .
* GLC
* النتائج والمناقشة .

الفصل العشــرون

– استخدام الأجسام المضادة وحيدة الاوجه للكشف عن اثار المواد الكيميائية :

* مقدمـــــة
* استجابة المناعة
* الأجسام المضادة



تقدير مركب ايبروديون فى الاغذية باستخدام طريقة التحليل المناعى الانزيمى

Determination of ipodione in foods by ELISA

لقد تم تطوير طريقة التحليل المناعى (ELISA) وهو اختصار يعنى استخدام الانزيم المرتبط بالجسم المناعى Enzyme-linked immunosorbent وهى طريقة وجد انها قادرة على تقدير المبيد الفطرى ايبروديون فى مستخلص الايثيل اسيتات للأغذية وذلك بدون اجراء عملية تنقية . وذلك عندما تم اختيار ٤ سلع كل منهم يحتوى على مركب الايبروديون فى حدود ٠,١ – ١ مللجم/كجم. ولقد لوحظ ان اقل نسبة استرجاع كانت ٨٦٪ كما انه لوحظ ان نسب الاسترجاع لها علاقة بطريقة التحليل باستخدام GLC التى تستخدم الكشاف من النوع N/P . ومن ناحية اخرى وجد ان نواتج التحلل المائى للايبروديون يعاد ترتيبها بحيث تكون تفاعلات هذه النواتج متشابهة مع المركب الاصلى (الايبروديون) . وبالنسبة للفاعلية فقد لوحظ ان المبيدات الفطرية مثل Vinclozolin و Procymidone والشبيهة بالايبروديون كانت اكثر نشاطا بحوالى ٣,٥ الى ١٠ مرات عن الايبروديون .

المقدمـــة Introduction :

ان مركب الايبروديون عبارة عن مبيد فطرى بالملامسة وقد تم تسجيله للاستخدام فى كندا على عدة محاصيل مختلفة . وقد تم نشر عدة طرق لتقدير متبقياته ، ومن هذه الطرق التقدير الكمى باستخدام GLC وذلك بعد اجراء التنقية على الفلوروسيل . وعند اتباع طريقة تحليل بديلة للطرق التقليدية فكان الاختيار على طريقة التحليل المناعى بسبب ما حدث بها من تطورات حيث انها طريقة تعتمد على التفاعلات الكيميائية الخاصـة بالاجسـام المناعيـة . وذلك لعـدد مـن متبقيات المبيـدات فى الاغـذية وذلك مثل مركـب diflubenzauron فى اللبن ومركـب metalaxyl فى الفاكهة ومركب dichlofop-methyl فى البنجـر وفول الصـويا .

ومند ان وجد ان هذه الطرق تشير الى امكانية التقدير المتخصص باستخدام اقل قدر من العينات ، فان هذ ا الاسلوب قد تم بحثه بغرض تقديمه وجعله فى صورة ميكانيكية لتحليل عدد كبير من العينات وبتكلفة قليلة .

الطـــرق Methods :

* الجسم المناعى Immunogen :

لقد تم ادماج المركب 3 - (3, 5-Dichlorophenyl) - 2,4 - dioxo - 1 - imidazo-line propionic acid مع بروتين بلازما الانسان وذلك باستخدام مركب 1- [3- (dimethyl -

aninopropyl)] - 3 - ethyl carbodiimide hydrochloride وذلك عند درجة ٦,٦ فى منظم فوسفاتى 0.2 M .

* **مضادات البلازما Antiserum :**

لقد تم حقن ارانب بيضاء من النوع Newzealand بـ ٠,٥ مللجم جسم مناعى فى ٠,٥ مل مستحلب مكون من المادة الاضافية Freund مع الـ Saline بنسبة ١ : ١ .

* **الحساسية Plate sensitization :**

لقد تم تحضير البروتين الحساس وذلك بتكثيف زلال البيض وذلك بخلطه بتفاعل لا مائى (Wie and Hammock) والمحلول المرتبط الناتج يؤخذ منه 4 mg/ml توضع مع 200 ML محلول منظم (بيكربونات) ذو درجة pH ٩,٥ . هذا الخليط يوضع على كل well من اللوح plate . ثم يتم تحضين اللوح على ٤° م لمدة ١٦ ساعة بعدها تغسل ٣ مرات بمحلول ٠,١ ٪ من مادة Tween ٢٠ ثم تغسل مرتين بالماء المقطر . وتخزن على حرارة اقل من الصفر المئوى .

* **تحضير العينة Sample preparation :**

يتم اخذ عينة (١٠ جم) ويتم إستخلاصها وذلك بهرسها باستخدام ٤٠ مل من الايثيل اسيتات . ثم يتم ترشيحها ونجعل الحجم النهائى ٥٠ مل . ويؤخذ من ذلك المحلول ويتم وضعهم فى انبوبة اختبار زجاجية (١٢ × ٧٥ م) ونجعل المحلول فى صورة جافة بعدها يذاب الجزء الجاف فى 25ul من DMSO .

بروتوكول التحليل المناعى Immunoassay Protocol :

يتم تخفيف بنسبة ١ : ٣٠٠٠ للمصل المضاد antiserum وذلك باستخدام جيلاتين ٠,١ ٪ ويؤخذ من هذا التخفيف ١ مل ويضاف للعينة . بعد ذلك تضاف فى انبوبة إختبار تركيزات متدرجة من مركب iprodione القياسى والمحضر فى 25ul من مذيب DMSO. هذه التركيزات تكون فى حدود ٢ر ، ٤ر ، ٨ر ، ١,٦ ، ٣,٢ ، ١٢,٨ تانوجرام ، ويتم تحضين الانابيب بعد ذلك على ٤° م لمدة ٣٠ دقيقة .

تؤخذ بعد ذلك 200UL وتضاف فى صورة ٣ مكررات وذلك الى wells الموجودة على الالواح السابقة التحضير ، وبعد التحضين على ٤° م لمدة ساعة . يتم الغسيل ٣ مرات بمحلول ١ر ٪ من مادة Tween20 . بعد ذلك يضاف 225 UL من المحلول المخفف بنسبة ١ : ١٠٠٠ من مادة Horseradis peroxidase والمعلم بـ anti-rabbit وبعد ٣٠ دقيقة على حرارة المعمل فان الالواح تغسل ثم يضاف 225 UL من مادة التفاعل وهى (O- phenylene - diamine/hydrogen) ويتم ايقاف التفاعل بعد ١٥ دقيقة من الاضافة الاخيرة لمادة التفاعل وذلك باضافة soul من حمض الكبريتيك OSM . ويتم اخذ قراءة الكثافة الضوئية O.D. من جهاز قياس الالوان .

التحليل الكروماتوجرافى GLC :

* تحضير العينة Sample preparation :

ان مستخلص العينة والمحضر فى الايثيل اسيتات والذى تم تحضيره للعمل بطريقة ELISA فانه يتم تبخيره الى درجة الجفاف ثم يتم توزيعة بين ٢٥ مل ماء ، ٢٥ مل دايكلورو ميثان . بعد ذلك يتم الاستخلاص من الطبقة المائية مرة اخرى بـ ٢٥ مل من الدايكلورو ميثان ويتم جمع المستخلصين الاول والثانى ثم يتم تجفيفهم .

* العمود الكروماتوجرافى Column Chromatography :

يتم اخذ المستخلص الجاف ب١ ٥ مل دايكلورو ميثان ويتم التحليل الكروماتوجرافى على عمود طوله ١٨٠ سم × ٦ م ومعبأ بـ ٩ جرام فلوروسيل مخلوط بالداى كلورو ميثان . مع ملاحظة انه اولا يتم عملية اراحة العمود بـ ٢٠ مل من الداى كلورو ميثان والناتج يتم الاستغناء عنه ثم تتم اضافة الـ ٥ مل من المستخلص السابق للعمود وتتم الازاحة بـ ٢٥ مل من الايثيل اسيتات ٢ ٪ فى الداى كلورو ميثان والناتج يؤخذ وتجرى له تجفيف والمتبقيات تذاب فى ٢ مل تولوين للتقدير بواسطة GLC .

GLC :

لقد تم استخدام جهاز Avarian والمتصل بكشاف من النواع N/P ذو درجة حرارة ٢٦٠° م وعمود الفصل كان بطول ٢٠ متر وقطر داخلى ٢٥ر م ومعبأ بمادة السليكا المغلفة بـ ٢٥ر وحدة من مادة DBS وتم حقن العينات بحجم IUL وكان معدل سريان الغازات كالآتى :

غاز الهيليوم ٣٣ سم /ثانيـة

الهـــــواء ١٧٥ مل/ دقيقة

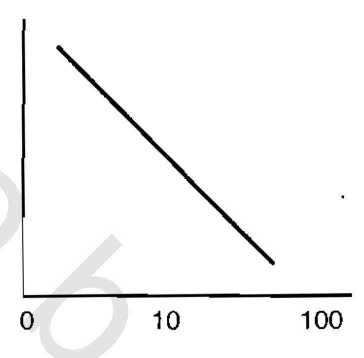
هيدروجين ٤,٥ مل / دقيقة

نتروجين ٣٠ مل / دقيقة

وتم حقن العينة على حرارة ١١٠ م وبعد ٤٥ ثانية تمت البرمجة للحقن على ٢٤٠ م ووجد ان وقت الحبس هو ٥,٣ دقيقة .

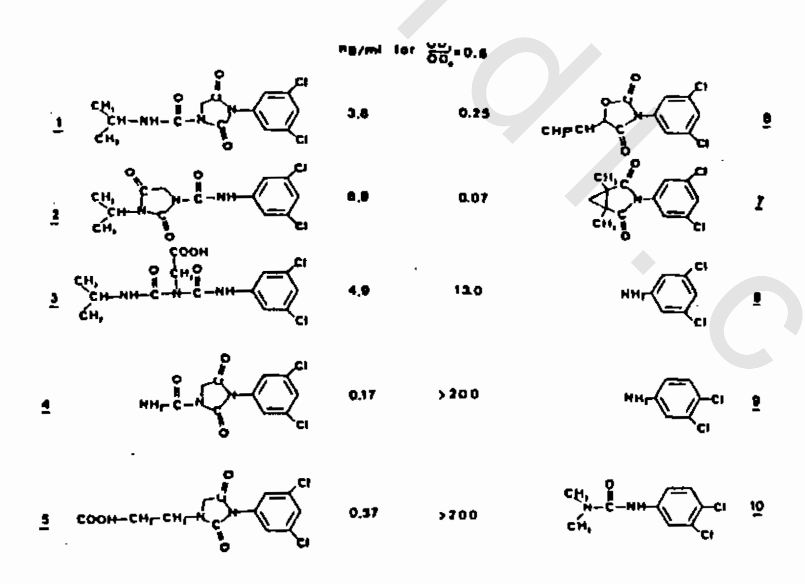
النتائج والمناقشة :

فى شكل (١) نجد المنحنى القياسى والذى يوضح العلاقة الخطية بين لوغاريتم التركيز للمركب الايبروديون وبين الكثافة الضوئية للـ wells بعد التفاعل الانزيمى . ووجد ان الميل يزداد من ١٧ر - ٢٠ر عندما تم استخدام الجيلاتين بدلا من bovin serum albumin فى التخفيف مما يدل على حساسية التقييم . ووجد ان اقل حدود امكن الكشف عنها كانت ٠٣ر مللجم/كجم وذلك بناءا على قيم الانحراف القياسى لنقط المنحنى القياسى .



شكل (١): المنحنى القياس لمركب الايبروديون بطريقة التحليل المناعى

ونسب الاسترجاع لعدة سلع قد تم تقديرها باستخدام ELISA و GLC وتم ادراجها فى جدول . وفى كل الاحوال باستثناء التقدير بالـ GLC من الفراولة . فان نسب الاسترجاع قد تجاوزت ٨٥ ٪ . ومع تكرار التجارب فى حالة عينات الطماطم عندما كانت تحتوى على ٥ر مللجم / كجم فان قيمة معامل الاختلاف = ٧,٨ ٪ باستخدام ELISA مقارنة بقيمة ٣,٨ ٪ باستخدام GLC .



شكل (٢) يبين الاستجابات النسبية لعدة مركبات والشبيهة بالايبروديون .

وقد تم تقدير الاستجابة بتطبيق قيم الكثافة الضوئية المتحصل عليها من التركيزات المختلفة من المركب مقابل لوغاريتم التركيز . فنجد ان المركب رقم (٢) ناتج تمثيل والمركب (٣) عبارة عن ناتج تحلل مائى . وكل منها يعطى استجابات متشابهة للايبروديون . بينما مركب (٨) -3, 5 dichloro aniline هو الاقل تثبيطا للجسم المضاد ومركب (٩) شبيه بمركب (٨) بينما مركب (١٠) عبارة عن مبيد الحشائش diuron . ومركب (٦) هو مبيد vincllosolin ومركب (٧) هو مركب Procymidone . وهما لم يسجلا للاستخدام فى كندا ولا يتوقع استعمالهم على المحاصيل المحلية . ولكن عند استخدام هذه المركبات الفطرية فى البلاد الخارجية خاصة على محصول العنب فمن الممكن ان ينتج عن ذلك وجود متبقيات فى السلع المستوردة والتى تعطى قيم ذات خطأ كبير عن محتوى هذه السلع من مبيد الايبروديون والذى يقاس بطريقة ELISA . لذلك فلابد من اجراء عملية غربلة لهذه الطريقة من خلال معنويتها واهميتها فى تقييم المبيدات الفطرية الشبيهة التركيب .

استخدام الاجسام المضادة وحيدة الاوجه للكشف عن اثار المواد الكيميائية

Monoclonal antibodies for the detection of trace chemicals

ان المشاكل المصاحبة للتحليل الكيميائى باستخدام طرق الكرماتوجرافى التقليدية من الممكن ان تحدد الكشف عن اثار متبقيات المواد العضوية . فمن احدى هذه المشاكل مثلا نجد التكلفة والوقت المستهلك لتحليل كل عينة الامر الذى يعوق تحليل عدة عينات . الامر الذى يجب معه اجراء تطوير فى الاساليب المتبعة وتغييرها . ومن احدى الطرق الحديثة هى طريقة التحليل المناعى Immunoassay (ويقصد بها استخدام طريقة المناعة) وذلك كاحدى الوسائل التى تقلل التكلفة وتمكن من تحليل عدة عينات فى وقت واحد بطريقة اتوتوماتيكية . ولقد تم ذلك التطور فى العقد الماضى . وذلك باستخدام الاجسام المضادة من النوع Monoclonal والتى اقترحت كطريقة متخصصة ولها قدرة اختيارية عالية عن تلك الطريقة الاعتبارية والتى تعتمد على استخدام الامصال المضادة بالدم antisera .

وطريقة التحليل المناعى من الممكن تطويرها بحيث تكون سهلة الاستعمال وتكون فى صورة وسيلة حقلية متنقلة وتعطى نتائج سريعة ولها القدرة على الكشف عن المتبقيات فى حدود تصل الى اقل من واحد جزء فى البليون ، وهذا الموضوع يشمل الطرق المختلفة التى عملت على تطوير هذا الاسلوب وذلك من خلال الكشف عن جزيئات عضوية صغيرة وذلك باستخدام التحليل المناعى لمركب 2,3,7,8-TCOD(2,3,7,8-Tetrachlorodibenzodioxin) كمثال .

مقدمة Introduction :

لقد اتضح ان هناك عدد كبير من طرق التقييم المناعى للمبيدات هذه الطرق عبارة عن دراسات توضح ان الاجسام المضادة تستطيع ان تعمل على تكوين روابط مع مدى واسع من

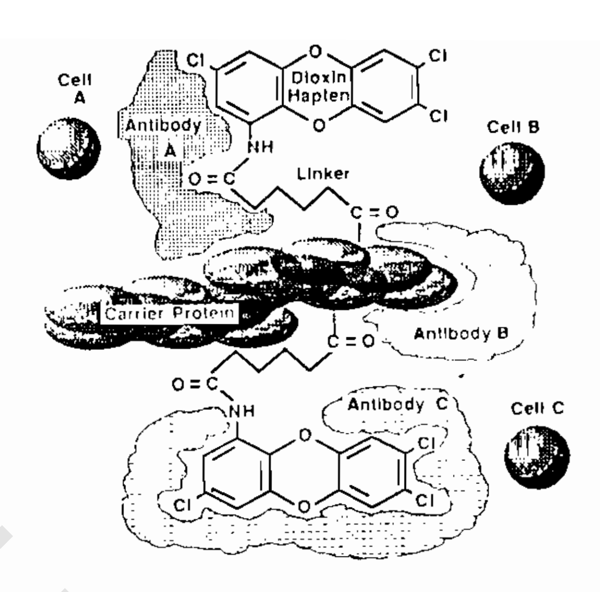
الجزيئات العضوية الصغيرة . وهى طريقة غاية فى الحساسية وتكلفتها قليلة وسريعة الكشف عن الملوثات . وطريقة التحليل المناعى تعتبر واضحة ومناسبة لتقدير المتبقيات كميا ، وعندما يكون من الصعوبة استخدام طرق الكروماتوجرافى . كما فى حالة الباراكوات والسيبرمثرين أو عندما تكون المركبات المراد تحليلها معقدة وذات نواتج بيولوجية مشتقة مثل السموم الفطرية والافيرمكثين ، أو عندما يراد تقدير مشابه واحد فقط مثل dioxin و S-bioallethrin .

وهنا سيتم استخدام الاجسام المضادة لمركب dioxin كنموذج لتحليل متبقيات المبيدات . فمنذ عشرة سنوات شوهد تطور رهيب فى استخدام طريقة التقييم المناعى Map وذلك بسبب ما تتمتع به من اختلافات متميزة عن الطرق الاعتيادية . وهى طريقة تختلف عن تلك التى تسمى Polyclonal antisera حيث انها غير مكلفة بالاضافة الى انها تستخدم كطريقة قياسية .

ان اختبارات الاجسام المضادة تعتمد على إستغلال الجهاز المناعى الطبيعى وما يتولد منه من استجابات فى صورة تكوين antigens . وفى شكل (١) يتضح المميزات العديدة لاستجابة الجهاز المناعى ، وفى حالة الجزيئات الصغيرة مثل dioxins فانه لا يستجيب لهذا الجسم المضاد اذا حقن بمفرده حيث انه لا بد من ارتباطه بجزيئات حاملة له وعادة ما تكون هذه الحوامل عبارة عن بروتين . ويجب ملاحظة انه يجب تحديد واختيار اماكن الارتباط وطبيعتها الكيميائية حيث ان لذلك تأثير على طبيعة انتاج الاجسام المضادة .

استجابة المناعة Clonal nature of the immune response :

ان الصفة الرئيسية لاستجابة المناعة للجسم المضاد هى ظاهرة الإفراز للاجسام المضادة . فنجد انه فى كل الفقاريات فانها تحتوى على خلايا ليمفية من النوع بيتا B وهذه الخلايا تعتبر احدى انواع الخلايا المناعية التابعة لجلوبيولين الدم ، وتتميز بوجود مستقبلات خاصة موجودة على غلافها الخارجى . كما اننا نلاحظ ان عليها مستقبل واحد مميز لها فى عملية ارتباطها بالجسم الغريب . وبعد ان تتم عملية المناعية Immunization (ادخال اجسام غريبة وتكوين اجسام مضادة لها) فان هذه الخلايا التى من النوع بيتا B تكون قادرة على ان تتحد مع الاجسام الغريبة وعند تلك المرحلة فان هذه الخلايا تفرز اجسام مضادة عند نفس مكان وجود المستقبلات التى تتحد مع الجسم الغريب . وبالتالى فان تعدد الاجسام المضادة فى البلازما تعكس مدى تعدد الخلايا التى افرزت هذه الاجسام المضادة (بمعنى ان كل جسم مضاد يفرز من خلية واحدة) وعموما فانه يمكن توضيح ما سبق فى الشكل (١) .



شكل (١٠) رسم توضيحى للإستجابة المناعية لهابتين الأدلوكسين المرتبط مع البروتين الحامل

يتضح من الشكل ان هناك ٣ أنواع من الخلايا من النوع بيتا B وما تفرزه من اجسام مضادة مميزة لها وذلك فى صورة استجابة للجسم الغريب (hapten) وهذه العملية لهذه الانواع من الخلايا تكون موجودة فى الحيوان الذى تم تحصينه من هذه المادة (hapten) حيث تلاحظ ان بلازما هذا الحيوان الذى تم تحصينه تحتوى على جميع الاجسام المضادة الملائمة لهذا الجسم الغريب والذى بالتالى تسمى (مضادات البلازما متعددة الأوجه) .

ومن نفس الشكل نجد ان بعض الاجسام المضادة " C " تتفاعل مع hapten بمفرده بينما البعض الاخر B يتفاعل مع البروتين الحامل لهذا الـ hapten والانواع المتبقية من هذه الاجسام المضادة A تفاعل مع الـ hapten أو الرابطة التى تربط بين الـ hapten والبروتين الحامل له أو مع الاثنين معا (hapten + بروتين حامل) . ونجد ان الاجسام المضادة من النوع A فقط هى المرغوب فيها فى اجراء عمليات التحليل المناعى وذلك من حيث انها مفيدة من حيث تخصصها فى هذا النوع من التحليل ، ويجب ملاحظة ان طرق الفصل الكروماتوجرافى لهذه الاجسام المضادة يعمل على احداث طرد لها من حيث انها تسبب تغيير فى درجة تخصصها .

كما ان الاجسام المضادة من النوع A نجد ان لها اوجه ارتباط متعددة لترتبط بعدة انواع من الـ hapten بغض النظر عن عدد جزيئات الـ hapten ولكن بشرط ان يكون الوزن الجزيئى لهذا الـ hapten اقل من ٥٠٠ .

*** الأجسام المضادة وحيدة الأوجه**

بعكس ما يحدث فى نظام مضادات البلازما المتعددة الاوجه Polyclonal نجد ان تحضير الاجسام المضادة التى تم افرازها من خلايا متخصصة فى تفاعلها monoclonal فانها لا يمكن

فصلها فى صورة اجسام مضادة متخصصة عن غيرها من اجسام بروتينية موجودة فى البلازما . ولكن من الممكن فصل الخلايا المفرزة لهذة الاجسام المضادة الخاصة بها ، وذلك كما يلى : بعد عملية التحضين فان الخلايا من النوع B يتم ازالتها وفصلها من البلازما وتجعلها تنمو فى بيئة وذلك بادماجها فى خلايا خاصة بالأورام والتى قد تم عزلها وزراعتها مسبقا ويتم ذلك فى الخارج معمليا In Vitro .

هذه الخلايا المدمجة B تسمى بعد زراعتها باسم hybridomas وبالتالى تستطيع ان تنمو وتفرز الاجسام المضادة الخاصة بها . وهذه الخلايا نجد انها تكون مستعمرات تستطيع افراز الاجسام المضادة بصورة موحدة حيث ان كل مستعمرة تكون ناتجة من نمو خلية واحدة الامر الذى يتبعه إنتاج اجسام مضادة بصورة متشابهة وموحدة ومتخصصة لكل جسم غريب .

مما سبق نجد انه لابد من استخدام طريقة ELISA لكى نتعرف ونحدد خاصية الارتباط بين الجسم الغريب وبين الجسم المضاد لاستخدامها كوسيلة اساسية فى التحليل المناعى .

ونجد ان اساس التفاعل يعتمد على الفكرة التالية :

نجد ان الانزيم الموجود فى هذه الطريقة ELISA يتوزع ويعمل على ربط المركب الحر الموجود بالعينة والمراد تقديره وذلك بالجسم المضاد الذى تم تحضيره سابقا والذى قد تم ادمصاصه على جزيئات بلاستيكية رقيقة لها خاصة الادمصاص . وكمية الجسم المضاد الذى ارتبط بالجسم الغريب يتم تقديره وذلك بكشف النشاط الانزيمى الذى ارتبط بالجسم المضاد . وهى طريقة سريعة وسهلة علاوة على انها طريقة حساسة فى التقدير الكمى والتى يمكن استخدامها لمعرفة كمية الاجسام المضادة المتخصصة المرتبطة بالعينات الغير معروفة .

الفصل التاسـع عشـر

– تقدير مركب ايبروديون فى الاغذية باستخدام طريقة التحليل المناعى الانزيمى :

* المقدمـــــة
* الطــــرق
* الجسم المناعى
* مضادات البلازما
* الحســــاسـية Plate sensitization
* تحضير العينة
* بروتوكول التحليل المناعى
- التحليل الكروماتوجرافى .
* تحضير العينة .
* العمود الكرماتوجرافى .
* GLC
* النتائج والمناقشة .

الفصل العشـــرون

– استخدام الأجسام المضادة وحيدة الاوجه للكشف عن اثار المواد الكيميائية :

* مقدمـــــة
* استجابة المناعة
* الأجسام المضادة



تقدير مركب ايبروديون فى الاغذية باستخدام طريقة التحليل المناعى الانزيمى

Determination of ipodione in foods by ELISA

لقد تم تطوير طريقة التحليل المناعى (ELISA) وهو اختصار يعنى استخدام الانزيم المرتبط بالجسم المناعى Enzyme-linked immunosorbent وهى طريقة وجد انها قادرة على تقدير المبيد الفطرى ايبروديون فى مستخلص الايثيل اسيتات للأغذية وذلك بدون اجراء عملية تنقية . وذلك عندما تم اختيار ٤ سلع كل منهم يحتوى على مركب الايبروديون فى حدود ٠,١ – ١ مللجم/كجم. ولقد لوحظ ان اقل نسبة استرجاع كانت ٨٦٪ كما انه لوحظ ان نسب الاسترجاع لها علاقة بطريقة التحليل باستخدام GLC التى تستخدم الكشاف من النوع N/P . ومن ناحية اخرى وجد ان نواتج التحلل المائى للايبروديون يعاد ترتيبها بحيث تكون تفاعلات هذه النواتج متشابهة مع المركب الاصلى (الايبروديون) . وبالنسبة للفاعلية فقد لوحظ ان المبيدات الفطرية مثل Vinclozolin و Procymidone والشبيهة بالايبروديون كانت اكثر نشاطا بحوالى ٣,٥ الى ١٠ مرات عن الايبروديون .

المقدمــــة Introduction :

ان مركب الايبروديون عبارة عن مبيد فطرى بالملامسة وقد تم تسجيله للاستخدام فى كندا على عدة محاصيل مختلفة . وقد تم نشر عدة طرق لتقدير متبقياته ، ومن هذه الطرق التقدير الكمى باستخدام GLC وذلك بعد اجراء التنقية على الفلوروسيل . وعند اتباع طريقة تحليل بديلة للطرق التقليدية فكان الاختيار على طريقة التحليل المناعى بسبب ما حدث بها من تطورات حيث انها طريقة تعتمد على التفاعلات الكيميائية الخاصــة بالاجســام المناعيــة . وذلك لعــدد مــــن متبقيات المبيــــدات فى الاغـذية وذلك مثل مركـــب diflubenzauron فى اللبن ومركــب metalaxyl فى الفاكهة ومركب dichlofop-methyl فى البنجـــر وفول الصـويا .

ومند ان وجد ان هذه الطرق تشير الى امكانية التقدير المتخصص باستخدام اقل قدر من العينات ، فان هذ ا الاسلوب قد تم بحثه بغرض تقديمه وجعله فى صورة ميكانيكية لتحليل عدد كبير من العينات وبتكلفة قليلة .

الطـــــرق Methods :

* الجسم المناعى Immunogen :

لقد تم ادماج المركب 3 - (3, 5-Dichlorophenyl) - 2,4 - dioxo - 1 - imidazo-line propionic acid مع بروتين بلازما الانسان وذلك باستخدام مركب 1- [3- (dimethyl -

aninopropyl)] - 3 - ethyl carbodiimide hydrochloride وذلك عند درجة ٦,٦ فى منظم فوسفاتى 0.2 M .

* مضادات البلازما Antiserum :

لقد تم حقن ارانب بيضاء من النوع Newzealand بـ ٠,٥ مللجم جسم مناعى فى ٠,٥ مل مستحلب مكون من المادة الاضافية Freund مع الـ Saline بنسبة ١ : ١ .

* الحســاسـيـة Plate sensitization :

لقد تم تحضير البروتين الحساس وذلك بتكثيف زلال البيض وذلك بخلطه بتفاعل لا مائى (Wie and Hammock) والمحلول المرتبط الناتج يؤخذ منه 4 mg/ml توضع مع 200 ML محلول منظم (بيكربونات) ذو درجة pH ٩,٥ . هذا الخليط يوضع على كل well من اللوح plate . ثم يتم تحضين اللوح على ٤° م لمدة ١٦ ساعة بعدها تغسل ٣ مرات بمحلول ٠,١ ٪ من مادة Tween ٢٠ ثم تغسل مرتين بالماء المقطر . وتخزن على حرارة اقل من الصفر المئوى .

* تحضير العينة Sample preparation :

يتم اخذ عينة (١٠ جم) ويتم إستخلاصها وذلك بهرسها باستخدام ٤٠ مل من الايثيل اسيتات . ثم يتم ترشيحها ونجعل الحجم النهائى ٥٠ مل . ويؤخذ من ذلك المحلول ويتم وضعهم فى انبوبة اختبار زجاجية (١٢ × ٧٥ م) ونجعل المحلول فى صورة جافة بعدها يذاب الجزء الجاف فى 25ul من DMSO .

بروتوكول التحليل المناعى Immunoassay Protocol :

يتم تخفيف بنسبة ١ : ٣٠٠٠ للمصل المضــــاد antiserum وذلك باستخدام جيلاتين ٠,١ ٪ ويؤخذ من هذا التخفيف ١ مل ويضاف للعينة . بعد ذلك تضاف فى انبوبة إختبار تركيزات متدرجة من مركب iprodione القياسى والمحضر فى 25ul من مذيب DMSO. هذه التركيزات تكون فى حدود ٢ر ، ٤ر ، ٨ر ، ١,٦ ، ٣,٢ ، ١٢,٨ نانوجرام ، ويتم تحضين الانابيب بعد ذلك على ٤° م لمدة ٣٠ دقيقة .

تؤخذ بعد ذلك 200UL وتضاف فى صورة ٣ مكررات وذلك الى wells الموجودة على الالواح السابقة التحضير ، وبعد التحضين على ٤° م لمدة ساعة . يتم الغسيل ٣ مرات بمحلول ١ر ٪ من مادة Tween20 . بعد ذلك يضاف 225 UL من المحلول المخفف بنسبة ١ : ١٠٠٠ من مادة Horseradis peroxidase والمعلم بـ anti-rabbit وبعد ٣٠ دقيقة على حرارة المعمل فان الالواح تغســل ثــم يضاف 225 UL من مـــادة التفاعـــل وهـــى (O- phenylene - diamine/hydrogen) ويتم ايقاف التفاعل بعد ١٥ دقيقة من الاضافة الاخيرة لمادة التفاعل وذلك باضافة soul من حمض الكبريتيك OSM . ويتم اخذ قراءة الكثافة الضوئية O.D. من جهاز قياس الالوان .

التحليل الكروماتوجرافى GLC :

* تحضير العينة Sample preparation :

ان مستخلص العينة والمحضر فى الايثيل اسيتات والذى تم تحضيره للعمل بطريقة ELISA فانه يتم تبخيره الى درجة الجفاف ثم يتم توزيعة بين ٢٥ مل ماء ، ٢٥ مل دايكلورو ميثان . بعد ذلك يتم الاستخلاص من الطبقة المائية مرة اخرى بـ ٢٥ مل من الدايكلورو ميثان ويتم جمع المستخلصين الاول والثانى ثم يتم تجفيفهم .

* العمود الكروماتوجرافى Column Chromatography :

يتم اخذ المستخلص الجاف ب١ ٥ مل دايكلورو ميثان ويتم التحليل الكروماتوجرافى على عمود طوله ١٨٠ سم × ٦ م ومعبأ بـ ٩ جرام فلوروسيل مخلوط بالداى كلورو ميثان . مع ملاحظة انه اولا يتم عملية اراحة العمود بـ ٢٠ مل من الداى كلورو ميثان والناتج يتم الاستغناء عنه ثم تتم اضافة الـ ٥ مل من المستخلص السابق للعمود وتتم الازاحة بـ ٢٥ مل من الايثيل اسيتات ٢ ٪ فى الداى كلورو ميثان والناتج يؤخذ وتجرى له تجفيف والمتبقيات تذاب فى ٢ مل تولوين للتقدير بواسطة GLC .

GLC :

لقد تم استخدام جهاز Avarian والمتصل بكشاف من النواع N/P ذو درجة حرارة ٢٦٠° م وعمود الفصل كان بطول ٢٠ متر وقطر داخلى ٢٥ر م ومعبأ بمادة السليكا المغلفة بـ ٢٥ر وحدة من مادة DBS وتم حقن العينات بحجم IUL وكان معدل سريان الغازات كالآتى :

غاز الهيليوم ٣٣ سم /ثانيـة

الهـــــواء ١٧٥ مل/ دقيقة

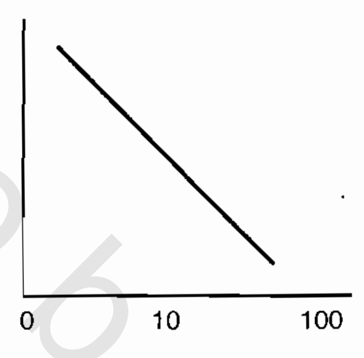
هيدروجين ٤,٥ مل / دقيقة

نتروجين ٣٠ مل / دقيقة

وتم حقن العينة على حرارة ١١٠ م وبعد ٤٥ ثانية تمت البرمجة للحقن على ٢٤٠ م ووجد ان وقت الحبس هو ٥,٣ دقيقة .

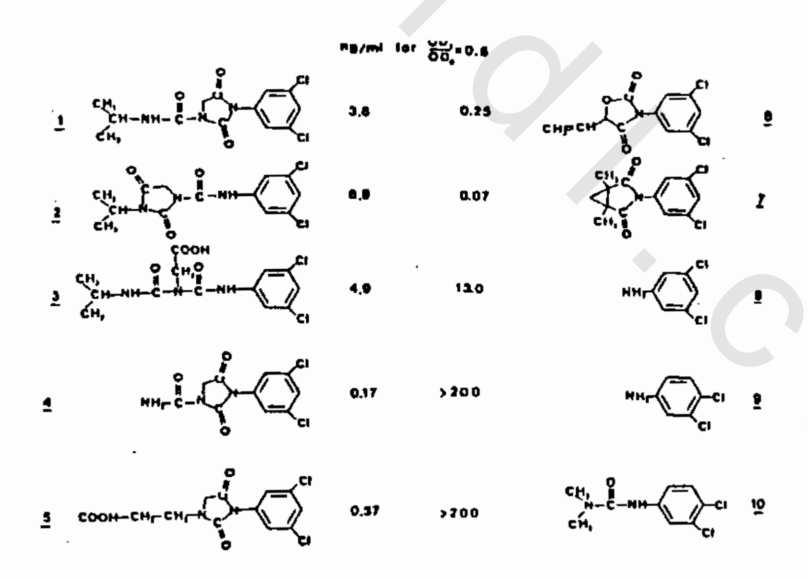
النتائج والمناقشة :

فى شكل (١) نجد المنحنى القياسى والذى يوضح العلاقة الخطية بين لوغاريتم التركيز للمركب الايبروديون وبين الكثافة الضوئية للـ wells بعد التفاعل الانزيمى . ووجــد ان الميل يزداد من ١٧ر - ٢٠ر عندمـا تم استخدام الجيلاتين بدلا من bovin serum albumin فى التخفيف مما يدل على حساسية التقييم . ووجد ان اقل حـدود امكن الكشف عنهـا كـانت ٠٣ر مللجم/كجم وذلك بناءا على قيم الانحراف القياسى لنقط المنحنى القياسى .



شكل (١): المنحنى القيــاس لمركب الايبروديون بطريقة التحليل المناعى

ونسب الاسترجاع لعدة سلع قد تم تقديرها باستخدام ELISA و GLC وتم ادراجها فى جدول . وفى كل الاحوال باستثناء التقدير بالـ GLC من الفراولة . فان نسب الاسترجاع قد تجاوزت ٨٥ ٪ . ومع تكرار التجارب فى حالة عينات الطماطم عندما كانت تحتوى على ٥ر مللجم / كجم فان قيمة معامل الاختلاف = ٧,٨ ٪ باستخدام ELISA مقارنة بقيمة ٣,٨ ٪ باستخدام GLC .



شكل (٢) يبين الاستجابات النسبية لعدة مركبات والشبيهة بالايبروديون .

وقد تم تقدير الاستجابة بتطبيق قيم الكثافة الضوئية المتحصل عليها من التركيزات المختلفة من المركب مقابل لوغاريتم التركيز . فنجد ان المركب رقم (٢) ناتج تمثيل والمركب (٣) عبارة عن ناتج تحلل مائى . وكل منها يعطى استجابات متشابهة للايبروديون . بينما مركب (٨) -5 ,3 dichloro aniline هو الاقل تثبيطا للجسم المضاد ومركب (٩) شبيه بمركب (٨) بينما مركب (١٠) عبارة عن مبيد الحشائش diuron . ومركب (٦) هو مبيد vincllosolin ومركب (٧) هو مركب Procymidone . وهما لم يسجلا للاستخدام فى كندا ولا يتوقع استعمالهم على المحاصيل المحلية . ولكن عند استخدام هذه المركبات الفطرية فى البلاد الخارجية خاصة على محصول العنب فمن الممكن ان ينتج عن ذلك وجود متبقيات فى السلع المستوردة والتى تعطى قيم ذات خطأ كبير عن محتوى هذه السلع من مبيد الايبروديون والذى يقاس بطريقة ELISA . لذلك فلابد من اجراء عملية غربلة لهذه الطريقة من خلال معنويتها واهميتها فى تقييم المبيدات الفطرية الشبيهة التركيب .

استخدام الاجسام المضادة وحيدة الاوجه للكشف عن اثار المواد الكيميائية

Monoclonal antibodies for the detection of trace chemicals

ان المشاكل المصاحبة للتحليل الكيميائى باستخدام طرق الكرماتوجرافى التقليدية من الممكن ان تحدد الكشف عن اثار متبقيات المواد العضوية . فمن احدى هذه المشاكل مثلا نجد التكلفة والوقت المستهلك لتحليل كل عينة الامر الذى يعوق تحليل عدة عينات . الامر الذى يجب معه اجراء تطوير فى الاساليب المتبعة وتغييرها . ومن احدى الطرق الحديثة هى طريقة التحليل المناعى Immunoassay (ويقصد بها استخدام طريقة المناعة) وذلك كاحدى الوسائل التى تقلل التكلفة وتمكن من تحليل عدة عينات فى وقت واحد بطريقة اتوتوماتيكية . ولقد تم ذلك التطور فى العقد الماضى . وذلك باستخدام الاجسام المضادة من النوع Monoclonal والتى اقترحت كطريقة متخصصة ولها قدرة اختيارية عالية عن تلك الطريقة الاعتبارية والتى تعتمد على استخدام الامصال المضادة بالدم antisera .

وطريقة التحليل المناعى من الممكن تطويرها بحيث تكون سهلة الاستعمال وتكون فى صورة وسيلة حقلية متنقلة وتعطى نتائج سريعة ولها القدرة على الكشف عن المتبقيات فى حدود تصل الى اقل من واحد جزء فى البليون ، وهذا الموضوع يشمل الطرق المختلفة التى عملت على تطوير هذا الاسلوب وذلك من خلال الكشف عن جزيئات عضوية صغيرة وذلك باستخدام التحليل المناعى لمركب 2,3,7,8-TCOD(2,3,7,8-Tetrachlorodibenzodioxin) كمثال .

مقدمة : Introduction

لقد اتضح ان هناك عدد كبير من طرق التقييم المناعى للمبيدات هذه الطرق عبارة عن دراسات توضح ان الاجسام المضادة تستطيع ان تعمل على تكوين روابط مع مدى واسع من

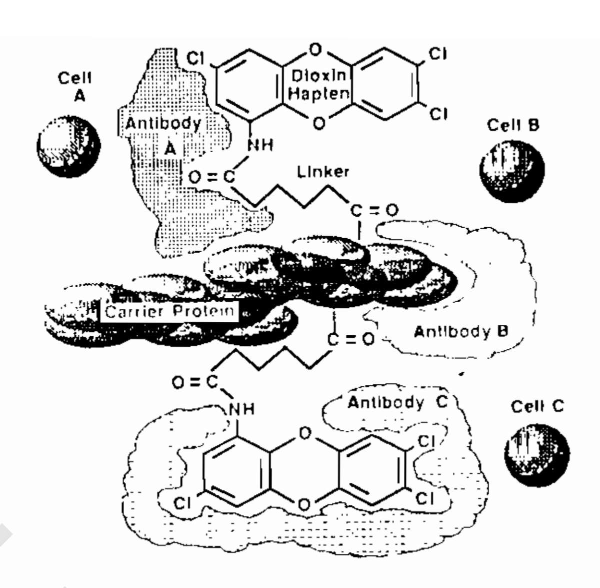
الجزيئات العضوية الصغيرة . وهى طريقة غاية فى الحساسية وتكلفتها قليلة وسريعة الكشف عن الملوثات . وطريقة التحليل المناعى تعتبر واضحة ومناسبة لتقدير المتبقيات كميا ، وعندما يكون من الصعوبة استخدام طرق الكروماتوجرافى . كما فى حالة الباراكوات والسيبرمثرين أو عندما تكون المركبات المراد تحليلها معقدة وذات نواتج بيولوجية مشتقة مثل السموم الفطرية والافيرمكتين ، أو عندما يراد تقدير مشابه واحد فقط مثل dioxin و S-bioallethrin .

وهنا سيتم استخدام الاجسام المضادة لمركب dioxin كنموذج لتحليل متبقيات المبيدات . فمنذ عشرة سنوات شوهد تطور رهيب فى استخدام طريقة التقييم المناعى Map وذلك بسبب ما تتمتع به من اختلافات متميزة عن الطرق الاعتيادية . وهى طريقة تختلف عن تلك التى تسمى Polyclonal antisera حيث انها غير مكلفة بالاضافة الى انها تستخدم كطريقة قياسية .

ان اختبارات الاجسام المضادة تعتمد على إستغلال الجهاز المناعى الطبيعى وما يتولد منه من استجابات فى صورة تكوين antigens . وفى شكل (١) يتضح المميزات العديدة لاستجابة الجهاز المناعى ، وفى حالة الجزيئات الصغيرة مثل dioxins فانه لا يستجيب لهذا الجسم المضاد اذا حقن بمفرده حيث انه لا بد من ارتباطه بجزيئات حاملة له وعادة ما تكون هذه الحوامل عبارة عن بروتين . ويجب ملاحظة انه يجب تحديد واختيار اماكن الارتباط وطبيعتها الكيميائية حيث ان لذلك تأثير على طبيعة انتاج الاجسام المضادة .

استجابة المناعة Clonal nature of the immune response :

ان الصفة الرئيسية لاستجابة المناعة للجسم المضاد هى ظاهرة الإفراز للاجسام المضادة . فنجد انه فى كل الفقاريات فانها تحتوى على خلايا ليمفية من النوع بيتا B وهذه الخلايا تعتبر احدى انواع الخلايا المناعية التابعة لجلوبيولين الدم ، وتتميز بوجود مستقبلات خاصة موجودة على غلافها الخارجى . كما اننا نلاحظ ان عليها مستقبل واحد مميز لها فى عملية ارتباطها بالجسم الغريب . وبعد ان تتم عملية المناعية Immunization (ادخال اجسام غريبة وتكوين اجسام مضادة لها) فان هذه الخلايا التى من النوع بيتا B تكون قادرة على ان تتحد مع الاجسام الغريبة وعند تلك المرحلة فان هذه الخلايا تفرز اجسام مضادة عند نفس مكان وجود المستقبلات التى تتحد مع الجسم الغريب . وبالتالى فان تعدد الاجسام المضادة فى البلازما تعكس مدى تعدد الخلايا التى افرزت هذه الاجسام المضادة (بمعنى ان كل جسم مضاد يفرز من خلية واحدة) وعموما فانه يمكن توضيح ما سبق فى الشكل (١) .



شكل (١٠) رسم توضيحى للإستجابة المناعية لهابتين الأدلوكسين المرتبط مع البروتين الحامل

يتضح من الشكل ان هناك ٣ أنواع من الخلايا من النوع بيتا B وما تفرزه من اجسام مضادة مميزة لها وذلك فى صورة استجابة للجسم الغريب (hapten) وهذه العملية لهذه الانواع من الخلايا تكون موجودة فى الحيوان الذى تم تحصينه من هذه المادة (hapten) حيث تلاحظ ان بلازما هذا الحيوان الذى تم تحصينه تحتوى على جميع الاجسام المضادة الملائمة لهذا الجسم الغريب والذى بالتالى تسمى (مضادات البلازما متعددة الأوجه) .

ومن نفس الشكل نجد ان بعض الاجسام المضادة " C " تتفاعل مع hapten بمفرده بينما البعض الاخر B يتفاعل مع البروتين الحامل لهذا الـ hapten والانواع المتبقية من هذه الاجسام المضادة A تفاعل مع الـ hapten أو الرابطة التى تربط بين الـ hapten والبروتين الحامل له أو مع الاثنين معا (hapten + بروتين حامل) . ونجد ان الاجسام المضادة من النوع A فقط هى المرغوب فيها فى اجراء عمليات التحليل المناعى وذلك من حيث انها مفيدة من حيث تخصصها فى هذا النوع من التحليل ، ويجب ملاحظة ان طرق الفصل الكروماتوجرافى لهذه الاجسام المضادة يعمل على احداث طرد لها من حيث انها تسبب تغيير فى درجة تخصصها .

كما ان الاجسام المضادة من النوع A نجد ان لها اوجه ارتباط متعددة لترتبط بعدة انواع من الـ hapten بغض النظر عن عدد جزيئات الـ hapten ولكن بشرط ان يكون الوزن الجزيئى لهذا الـ hapten اقل من ٥٠٠.

*** الأجسام المضادة وحيدة الأوجه**

بعكس ما يحدث فى نظام مضادات البلازما المتعددة الاوجه Polyclonal نجد ان تحضير الاجسام المضادة التى تم افرازها من خلايا متخصصة فى تفاعلها monoclonal فانها لا يمكن

فصلها فى صورة اجسام مضادة متخصصة عن غيرها من اجسام بروتينية موجودة فى البلازما . ولكن من الممكن فصل الخلايا المفرزة لهذة الاجسام المضادة الخاصة بها ، وذلك كما يلى : بعد عملية التحضين فان الخلايا من النوع B يتم ازالتها وفصلها من البلازما وتجعلها تنمو فى بيئة وذلك بادماجها فى خلايا خاصة بالأورام والتى قد تم عزلها وزراعتها مسبقا ويتم ذلك فى الخارج In Vitro معمليا .

هذه الخلايا المدمجة B تسمى بعد زراعتها باسم hybridomas وبالتالى تستطيع ان تنمو وتفرز الاجسام المضادة الخاصة بها . وهذه الخلايا نجد انها تكون مستعمرات تستطيع افراز الاجسام المضادة بصورة موحدة حيث ان كل مستعمرة تكون ناتجة من نمو خلية واحدة الامر الذى يتبعه إنتاج اجسام مضادة بصورة متشابهة وموحدة ومتخصصة لكل جسم غريب .

مما سبق نجد انه لابد من استخدام طريقة ELISA لكى نتعرف ونحدد خاصية الارتباط بين الجسم الغريب وبين الجسم المضاد لاستخدامها كوسيلة اساسية فى التحليل المناعى .

ونجد ان اساس التفاعل يعتمد على الفكرة التالية :

نجد ان الانزيم الموجود فى هذه الطريقة ELISA يتوزع ويعمل على ربط المركب الحر الموجود بالعينة والمراد تقديره وذلك بالجسم المضاد الذى تم تحضيره سابقا والذى قد تم ادمصاصه على جزيئات بلاستيكية رقيقة لها خاصة الادمصاص . وكمية الجسم المضاد الذى ارتبط بالجسم الغريب يتم تقديره وذلك بكشف النشاط الانزيمى الذى ارتبط بالجسم المضاد . وهى طريقة سريعة وسهلة علاوة على انها طريقة حساسة فى التقدير الكمى والتى يمكن استخدامها لمعرفة كمية الاجسام المضادة المتخصصة المرتبطة بالعينات الغير معروفة .

الفصل الواحد والعشرون

– استخدام الطرق المبسطة للتقدير الكمى لمخلفات مبيدات الآفات :

- مقدمـــــة
- طرق التقدير الكمى المبسطة .
- المعايــــــر .
- بعض التفاصيل الضرورية الخاصة بالتقدير الكمى .
- كروماتوجرافى الالواح الورقية TLC .
- التقدير الحيوى باستخدام الدروسوفيلا .
- الطرق اللونية للدايثيوكربامات .
- الطرق الموصى بها للتقدير الكمى .

* خطوات التقدير .
* الإستخلاص والتنظيف .
* كروماتوجرافى الجيل المنفذ .

- الادمصاص الكرماتوجرافى .



استخدام الطـرق المبسطة للتقدير الكمي لمخلفـات مبيـدات الآفات

Application of simplified methods for the quantification of pesticide residue

مقدمـــة Introduction :

معظم الطرق المستخدمة حاليا لتقدير مخلفات المبيدات تتضمن استعمال اجهزة ووسائل مكلفة والحساسية العالية والتخصص الفائق لهذه الوسائل غير مطلوبة فى جميع فروع بحوث المبيدات . وفى الغالب يمكن اجراء تقديرات البحث عن المخلفات فى الغذاء والتى تجرى بصورة روتينية باستخدام طرق بسيطة واقل حساسية بما يسمح بالتقدير الكمى للمخلفات عند مستويات الدستور codex الخاصة بالمستويات القصوى MRL's . وحيث انه لا توجد اية بيانات دقيقة او تتوفر بقلة عن المعاملات السابقة بالمبيدات يصبح من المطلوب توفر طرق لتقدير المخلفات المتعددة "multiresidue" والتى تعطى وضعا موثوق بها عن نوعية المبيد الموجود . والآن اصبح من الشائع استخدام الكروماتوجرافى الغازى السائل GLC فى تقدير مخلفات المبيدات ولو ان كفاءته العالية ليست مطلوبة للكشف الروتينى Screening عن المخلفات فى المواد الغذائية . ومما يجعل هذه الاجهزة غير مرغوبة احتياجها لصيانة دورية متقدمة وغلو ثمن متطلبات التسجيل ، ومن ثم اصبح وجود بدائل وهى كثيرة امرا ضروريا وقد اثبتت نجاحات كبيرة فى الكشف عن مخلفات المبيدات فى حدود آثار وبتكاليف معقولة ... وهذا ما سنتناوله فى هذا المجال .

طرق التقدير الكمى المبسطة Simplified quantitation procedures

المعايير Criteria :

الطرق المبسطة البديلة يجب ان تواكب احتياجات الدول النامية للكشف الروتينى الدورى على المبيدات فى المواد الغذائية وكذلك لانشاء معامل جديدة . ويجب تجنب سوء الفهم المقصود بالطرق المبسطة simplified حيث تعنى تقليل حجم الاجهزة وبتكلفة معقولة مع حدود التقديرات المطلوبة ولا تعنى بالمرة تقليل الكفاءة الخاصة بالتقدير . ومن ثم يجب على طرق التقدير الكمى لمخلفات المبيدات ان تحقق المتطلبات التالية :

- تصلح للمبيدات الحشرية والفطرية المعروف عنها السمية على الانسان والثبات البيئى .
- تستطيع تقدير نواتج التمثيل الهامة .
- قادرة على تقدير مدى واسع من مبيدات الآفات .
- ذات فائدة لتقدير المخلفات فى السلع الهامة على المستوى الدولى والمحلى خاصة المواد الغذائية .
- قادرة على تقدير حدود المخلفات بما يعادل ١/٥ الى ١/١٠ الحدود القصوى للمخلفات MRL's .
- قادرة على اعطاء نتائج دقيقة فى حدود ١٠ - ٢٠٪ على مستوى الـ MRL's .
- تتطلب اجهزة غير مكلفة وغير متطورة نسبيا .

- يمكن العمل بها دون الحاجة الى غازات او مذيبات عالية النقاوة .... الخ .

يمكن تحقيق المتطلبات الموضحة اعلاه بالطرق اللونية والبيوكيميائية والبيولوجية . وكقاعدة عامة فان هذه الطرق غير متخصصة لمركب معين ولكنها تصلح لمجاميع لها نفس الصفات الكيميائية والحيوية . وعندما تستخدم كما هى تكون ملائمة لأغراض الاستكشاف الروتينى بما يوضح وجود المخلفات مجال التقدير . ومن ثم تصبح هذه الطرق غير قادرة على تحديد نوع المبيد ومن هنا يمكن لهذه الطرق ان تحقق التقدير الكمى فى حالة ما اذا كانت المبيدات المختلفة تعطى نفس الاستجابة .

الطرق الموضحة فيما بعد تصبح اكثر كفاءة عندما تدمج مع الفصل الكروماتوجرافى الذى يعطى المعلومات الوصفية . ومن اكثر الطرق بساطة وملائمة هو كروماتوجرافى الالواح الرقيقة (TLC) الذى يوصى به بدرجة كبيرة للتعريف الخاص بالمخلفات الموجودة بالاضافة الى مقدرته فى التقدير الكمى لو اتخذت بعض المعايير الخاصة والكروماتوجرافى ذو الضغط العالى (HPLC) يمكن التوصية به فى بعض الحالات اعتمادا على نوع المبيد وخواصه الطيفية Spectroscopic . ويمكن تزويد المعامل باجهزة مبسطة من الـ HPLC من الوحدات التجارية المتوفرة . وليكن معلوما ضرورة توفر المذيبات العضوية عالية النقاوة فى هذه التحليلات . والجدول (١) يوضح مميزات وعيوب طرق التقدير البسيطة للمخلفات وهى تشمل الطرق اللونية والانزيمية والحيوية وكروماتوجرافى الالواح الرقيقة منفردا أو مندمجا مع النظم الانزيمية او الحيوية وكذلك كروماتوجرافى الضغط العالى .

جدول (١) : تقييم الطرق المبسطة للكشف عن مخلفات المبيدات فى المواد الغذائية .

المعايير	اللونية	الانزيمية	الحيوية	TLC	TLC والانزيم	TLC والحيوية	HPLC
التقدير الكمى	++	+	+	++	++	++	+++
التقدير النوعى	o	o	o	++	++	++	+++
تخصص التقدير	+	++	++	++	+++	+++	++
حدود التقدير	+	++	+	+	+++	++	++
الدقـــة	++	++	+	++	++	+	++
الحساسية للشوائب	--	++	++	+	++	+	+
الوقت اللازم	++	+	+	++	++	o	++
تكلفة الاجهزة	+	++	+++	+++	+++	+++	o
تكلفة المذيبات وخلافة	+	++	+++	++	++	++	o
ضرورة التنظيف	--	++	+++	o	++	+	--
الملاءمة للعمل الروتينى	++	++	+	++	++	+	++

بعض التفاصيل الضرورية الخاصة بالتقدير الكمى Some experimental details لكروماتوجرافى الالواح الورقية TLC :

كما هو معروف يمثل سمك طبقة المادة المغطية للوح اهمية كبيرة جدا . وكقاعدة عامة تعتبر الالواح المجهزة بطريقة يدوية غير ملائمة . ومن أحسن الالواح تلك المجهزة تجاريا من شرائط الالومنيوم . ولعمل تنقيط للعينات دقيق ومرضى تستخدم الماصات الدقيقة والمستهلكة وهى تفيد فى تقليل خطأ الانسياب . وفى حالة الحجوم الكبيرة يكرر اضافة الحجم الصغير . والاستخدام المتجانس uniform للجواهر الكشافة فى غاية الاهمية . وعلى سبيل المثال محلول نترات الفضة يؤدى الى تكوين توزيع متجانس للجواهر الكشافة عندما يغمر فيها بدرجة تفوق ما يحدث عند الرش . واستخدام الالواح المعاملة بنترات الفضة قد تكون مناسبة ولكنها ترفع من حدود التقديرات .

تحدث تداخلات خطيرة فى حالة وجود مستخلصات مرافقة Co-extractives وهذا يؤكد حاجة تكنيك TLC الى عمليات تنظيف متتابعة وشاملة Clean-up فى معظم الحالات . والتقدير الذى يعتمد على تثبيط انزيم الكولين استريز يتطلب عمل تنقيط بحجم قليل من المحلول الخاص بالعينة فى حدود ملليجرامات قليلة . وللتغلب على الخطأ الناجم عن الاختلافات الموجودة بين لوح واخر يجب تكرار التجارب وبصفة منتظمة باستخدام العينات القياسية على نفس الكروماتوجرام جنبا الى جنب مع العينات محل التقدير .

فى التقدير الكمى يمكن الحصول على احسن النتائج بالمقارنة المرئية visual لمكان وحجم وكثافة البقع Location, size and intensity الناتجة من سريان مستخلصات العينات بالمقارنة ببقع المركبات القياسية . ويستخدم فى ذلك البلانتيميتر مع او بدون ورق المربعات او وزن الورق الذى يمثل مساحة البقعة بعد قطعها من نسخة الزيروكس . وفى بعض الحالات يجرى الفحص الالى للبقع مباشرة Direct scanning ولكنه يحتاج خبرة كافية لتفسير النتائج بصورة سليمة . وتختلف الاراء حول دقة ومصداقية النتائج التى يعطيها هذا التكنيك فى مجال مخلفات المبيدات . وجميع هذه الطرق لا يمكن معها القول ان استخدام الاجهزة الاكثر تطورا ضرورية لتحسين النتائج خاصة اذا اخذ فى الاعتبار الاخطاء الناجمة من مصادر اخرى .

لاقامة منحنى قياسى تمثل مساحات البقع للمواد القياسية على طول المحور الرأسى اللوغاريتمى على ورق نصف لوغاريتمى بينما تمثل كميات المبيدات المقابلة لكل دقيقة على المحور الافقى للتدرج . ومن ثم يؤدى بحساب ورسم العلاقة الخطية للإنحدار .

للكشف عن المخلفات فى المواد الغذائية بشكل روتينى لا يكون من الضرورى عمل تقدير كمى دقيق جدا ولكن المهم هو معرفة وتحديد ما اذا كان الحدود القصوى للمخلفات زادت عن القيم المحددة والمطلوبة ام لا . وفى هذه الحالة يكون كافيا استخدام بقعة واحدة قياسية تماثل قيمة الـ MRL فى محلول العينة .

التقدير الحيوى باستخدام الدروسوفيلا Bioassay with Drosophila :

من العوامل المحددة لنجاح الاختبار ضمان تجانس الكائنات الحية المستخدمة وتربيتها تحت ظروف ملائمة ثابتة . ويجب عدم تحديد الذباب حتى يمكن نقله لطبق الاختبار . ولأجراد التقدير الكمى باستخدام الذباب يجب توزيع المستخلص على نصفى مسطح طبق الاختبار بصورة متجانسة . ويكون التقدير سهلا عندما يتم حصر الحشرات المسممة على فترات (متوالية هندسية من ١٥ دقيقة الى ٦ ساعات) . ويتم تمثيل النسب المئوية للموت على ورق الاحتمالات فى مقابل وقت اخذ القراءة . ومن الخط المستقيم الناتج يمكن الحصول على الوقت اللازم لتحقيق قتل ٥٠ ٪ من الحشرات (LT5O) ويمكن الحصول على نفس النتيجة بطريقة حسابية حيث يتم تحويل قيم الموت الكلية الى وحدات احتمال وتمثيلها على طول التدريج الخطى . وتتخذ قيم الـ LT5O كمعيار لكمية المبيد الموجودة . ولاقامة المنحنى القياس يتم تمثيل قيم LT5O فى مقابل كميات المبيدات المقابلة كلاهما على التدريج اللوغاريتمى .

الطرق اللونية للداى ثيو كربامات Colorimetry for dithiocarbamates :

التسخين السريع جدا الى الغليان ضرورى لتفادى فقد ثانى كبريتور الكربون الناتج من تكوين المشتقات الحلقية من الاثيلين ثنائى الدايثيوكربامات . ويعتبر محتوى النحاس (١٢ مللجم خلات نحاس) الخاصة بالجوهر الكشاف داى ايثانول امين عامل محدد لكثافة اللون ومن ثم يجب ان يظل ثابتا . ولا يمكن الاستمرار فى تقييم امتصاص ما يقل عن ١ر (تعادل ٥٠ مللجم ثانى كبريتور كربون) نظرا لعدم خطية المنحنى القياسى . وفى هذه الحالات يصبح لزاما على القائم بالتحليل تكرار عملية التقدير باستخدام حجم كبير من العينة .

الطرق الموصى بها للتقدر الكمى Procedures recommended for quantitation

خطوات التقدير Determination step :

عموما نأخذ فى الاعتبار معايير الطرق المبسطة والطرق الكمية للتقديرات يمكن التوصية بعدة طرق مختلفة لاحدى عشر مجموعة من مبيدات الآفات المعروف عنها كل ما يتعلق بالسمية والثبات . بالطبع ستعطى اولوية للطرق التى تحقق معلومات عن الكيف والنوعية . والقائمة الموجودة فى الجدول رقم (٢) توضح امكانيات التحليل المتوفرة والتى اسفرت عنها الخبرات الطويلة فى هذا المجال .

الاستخلاص والتنظيف Extraction and clean up :

معظم الطرق الكمية الموصى بها فى الوقت الحالى كطرق مبسطة ظهرت فى بداية الستينيات عندما لم يكن الكروماتوجرافى الغازى السائل GLC شائعاً فى التحليلات فى ذلك الوقت . وفى نفس الوقت حدث تطور كبير فى طرق تنظيف المستخلصات ، ولهذا السبب يمكن عمل تحويرات وتطويرات على الطرق الاولية التى ظهرت قديما بما يتمشى مع المتطلبات الحالية .

* الاستخلاص Extraction .. تستخلص العينات بمذيب الاسيتون ويفضل الاسيتونتريل مع المبيدات الكلورينية فقط . يؤخذ فى الاعتبار المحتوى المائى للعينة ويستخدم مخلوط الأسيتون والماء بنسبة ٢ : ١ خلال الاستخلاص . ويشبع المستخلص بكلوريد الصوديوم ويخفف بالدايكلوروميثان لفصل الماء المرافق للاستخلاص (التخفيف بالماء والتوزيع المتتابع غير ملائم بسبب فقد المبيدات الذائبة فى الماء) . والمستخلصات المركـــزة يمكن تحليلها بالطرق الحيوية او بوسائل التثبيط الانزيمى .

جدول (٢) : الطرق المبسطة الموصى بها للتعريف المتتابع والتقدير الكمى لمخلفات المبيدات .

مجموعات المبيدات	الطـــــــرق	المراجـــع
المبيدات الكلورينية العضوية	TLC - نترات الفضة / UV	٥ - ٨
	التقدير الحيوى بالدروسوفيلا (كمى فقط)	٩ - ١٢
المبيدات الفوسفورية العضوية	TLC - تثبيط استرازات كبد البقر	١٣ - ١٥
	التقدير الحيوى بالدروسوفيلا (كمى فقط)	٩ - ١٢
	تثبيط الكولين استريز بانتشار الاجار (كمى فقط)	١٦ - ١٨
الميثيل كاربامات	TLC - تثبيط استرازات كبد البقر	١٣ - ١٥
	التقدير الحيوى بالدروسوفيلا (كمى فقط)	١٣ - ١٥
	تثبيط الكولين استريز بانتشار الاجار (كمى فقط)	١٦ - ١٨
	الكروماتوجرافى HPLC والتقدير بالـ UV	١٩ - ٢٢
الداينتروفينول	الكروماتوجرافى HPLC والتقدير بالـ UV	٢٣
الداى ثيوكربامات	هضم الحامض - التقدير اللونى لثانى كبريتور الكربون	٢٤ - ٢٥
مبيدات فطرية اخرى	TLC - تثبيط نمو جراثيم الفطريات	٢٦ - ٢٧
	TLC - نترات الفضة / UV (المخلفات المحتوية	
على الهالوجينات فقط		٢٨
الترايازينات	TLC - تثبيط تفاعل Hill	٢٩ - ٣١

* كروماتوجرافى الجيل المنفذ Gel-permeation chromatography :

التنظيف باستخدام عمود فصل بسيط Gpc يمكن من فصل مرافقات الاستخلاص الزائدة ولكنه لا يستطيع التفرقة بين المخلفات ذات القطبية المختلفة مما يعطيها صفة الخطوة الدولية للتنقية (مثال ذلك طريقة الكريات الحيوية S-X 3 التى تزاح مع السيكلوهكسان / ايثيل اسيتات ١+ ١) . والسائل المزاح المركز يمكن تحليل بطريقة كروماتوجرافى الالواح TLC مع التثبيط الانزيمى أو طرق التقييم الحيوى .

الادمصاص الكرماتوجرافى Adsorption chromatography :

خطوات التنظيف الإضافية باستخدام السليكا جيل او الالومينا او مخلوط السليكا جيل / الشاركول فى الاعمدة يحقق تنقية اكثر تخصصا للمستخلص . وأنابيب البلاستيك القابلة للاستهلاك مع السليكا جيل او C - 18 كمادة مغلفة او الفلوريسيل مع استخدام الحقن الخاصة بحقن تحت الجلد تعتبر مناسبة فى العديد من الحالات . والسوائل المركزة المزاحة من العمود يمكن تحليلها بكروماتوجرافى الالواح مع الكشف المرئى عن البقع .

والمتطلبات الاساسية لاستخدام الطرق المبسطة ان تحقق نتائج التقدير الكمى توافقاً نسبيا مع ما يعطيه الكروماتوجرافى الغازى السائل GLC . ولقد امكن الحصول على نتائج ممتازة عن المخلفات باستخدام هذه الطرق المبسطة وما زال هناك قليل من عدم الثقة من تأكيد هذه النتائج اذا ما اجرى التحليل مرات اخرى باستخدام الـ GLC والـ TLC .

ومن المعتقد ان القليل فقط منشور عن امكانيات هذه الطرق المبسطة مما يؤكد ضرورة توفر معلومات اضافية اخرى فى بعض المعامل . وهذا حقيقى فى البلدان التى امكن تقييم قياسية هذه الطرق فى معاملها . والتقرير رقم ١٣ الذى اعدته هيئة IUPAC عن مبيدات الآفات (المرجع الاول) يلخص البيانات النسبية التى تحصل عليها من طرق الـ GLC والـ TLC . وقد قدم الباحث M. A. Klisenko (مرجع ١٤) اسهامات اخرى فى معامل فى الاتحاد السوفييتى . وفى الجدول (٣) تم توضيح هذه النتائج مقارنة بين كفاءة الطرق المبسطة وتلك الاكثر تقدما فى التقدير الكمى لمخلفات المبيدات .

جدول (٣) : معدل الاسترجاع وحساسية التقدير لمختلف المبيدات بالكروماتوجرافى الغازى السائل GLC وكروماتوجرافى الالواح TLC الرقيقة .

المبيد	الوسط	كروماتوجرافى الالواح: معدل الاسترجاع (٪)	كروماتوجرافى الالواح: حد التقدير مللجم/كجم	الكروماتوجرافى الغازى السائل: معدل الاسترجاع (٪)	الكروماتوجرافى الغازى السائل: حد التقدير مللجم/كجم
بنتازون	الذرة	٨٨ ± ١٢	٢ر	٧١ ± ٨	٠٥ر
	الماء	٩٠ ± ٦	٠٥ر	٩١ ± ٥	٠١ر
	التربة	٧٣ ± ١٠	١ر	٨٩ ± ٧	٠٣ر
كلوربيريفوس	الخضروات	٩٦ ± ٤	١ر	٩٦ ± ٢	٠٠٥ر
ديازينون	الخضروات	٩٢ ± ٧	٢ر	٩٤ ± ٨	٠٥ر
	التربة	٨٥ ± ١٠	٢ر	٨٥ ± ٢	٠٥ر
فينيتروثيون	الذرة	٧٢ ± ١١	١ر	٨١ ± ٥	٠٢ر
		٨٩ ± ١٠	٥,٠٢		
ايزوفوس	الارز	٨٣ ± ١٢	٠٥ر	٩١ ± ٥	٠٣ر
	الماء	٩٠ ± ١٠	٠٠١ر	٩٥ ± ٥	٠٠٥ر
	التربية	٨١ ± ١١	٠٥ر	٨٦ ± ١٠	٠١ر
ميثازين	التربة	٨٥ ± ٣	٠٥ر	٨١ ± ٩	٠٥ر
اوكساديازون	الارز	٧٥ ± ١٣	٠٥ر	٨٥ ± ٦	٠٤ر
الفوكسيم	الخضروات	٨٥ ± ٣	١ر	٧٦ ± ٩	٠٠٤ر
	التربة	٩٢ ± ٣	١ر	٩٤ ± ٦	٠٠٤ر
البربميفوس	الخضروات	٨٦ ± ٣	١ر	٨٩ ± ٣	٠٠٢ر
	التربة	٩٥ ± ٣	١ر	٩٥ ± ٣	٠٠٢ر
ترياسيل	الفواكه	٨٠ ± ١٠	١ر	٨١ ± ٧	٠٢ر
	الماء	٨٧ ± ١٠	٠١ر	٨٩ ± ٦	٠٠٥ر
	التربة	٧٤ ± ٧	١ر	٧٩ ± ٦	٠٣ر

* مقدرة انزيميا

REFERENCES قائمة المراجع

1. V. Bátora, S. Lj. vitorovic, H. P. Thier and M. A. klisenko, Pure Appl. Chem. 53, 1039-1049 (1981).

2. M. Beroza, K. R. Hill and K. H. Norris, Anal. Chem. 40, 1608-1613 (1968).

3. J. D. MacNeil and R. W. Frei, J. Chromatogr. Sci. 13, 279-285 (1975).

4. V. N. Mallet, P. E. Belliveau and R. W. Frei, Residue Rev. 59, 51-90 (1975).

5. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 13th edition, Washington (1980); section 29. 019-29.027.

6. Pesticide Analytical manual, U. S. Department of Health, Education and Welfare, FDA (1977); vol. I, section 410.1-413.2.

7. Deutche Forschungsgemeinschaft, Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln, Verlag Chemie, Weinheim-New York (1979); method S 9.

8. Zentralinstitut für Ernährung Potsdam-Rehbrücke, Nahrung 14, 647-659 (1970).

9. W. Weinmann, z. lebensm, Unters. Forsch. 107, 504-510 (1958).

10. Y. P. Sun, Bioassay-Insects. In : Analytical Methods for Pesticides, Plant Growth Regulators, and Food Additives, G. Zweig ed., Academic Press, New York-London (1963); vol. I, P. 399-423.

11. W. F. Phillips, Screening Methods. In : Analytical methods for Pesticides, Plant Growth Regulators, and Food Additives, G. Zweig ed., Academic press, New York-London (1963); vol. I, p. 471-490.

12. H. Rothert, Dtsch. Lebensm. Rundsch, 63, 81-85 (1967).

13. Zentralinstitut für Ernährung Potsdam-Rehbrücke, Nahrung 14, 671-681 (1970).

14. C. E. Mendoza, Residue Rev. 43, 105-142 (1972).; 50, 43-72 (1974).

15. S. Udaya Bhaskar and N. V. nanda kumar, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 64, 1312-1314 (1981).

16. T. E. Archer, enzymatic Methods. In : Analytical Methods for Pesticides, Plant Growth Regulators, and Food Additives, G. Zweig ed., Academic Press, New York-London (1963); vol. I, p. 373-397.

17. G. Voss, Residue Rev. 23, 71-95 (1968).

18. Zentralinstitut für Ernährung Potsdam-Rehbrücke, Nahrung 14, 695-697 (1970).

19. J. F. lawrence, J. Agric. Food Chem. 25, 211-212 (1977).

20. I. Fogy, E. R. Schmid and J. F. K. Huber, Z. Lebensm. Unters. Forsch. 169, 438-443 (1979); 170, 194-199 (1980).

21. R. T. Krause, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 63, 1114-1124 (1980).

22. F. H. Funch, Z/ Lebensm. Unters. Forsch. 173, 95-98 (1981).

23. P. A. Greve, Personal Communication (1981).

24. G. E. Keppel, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 54, 528-532 (1971).

25. Deutsche Forschungsgemeinschaft, Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln, Verlag Chemie, Weinheim-New York (1979); method S 15.

26. R. Engst and W. Schnaak, nahrung 23, 701-706 (1979).

27. J. Zadrozinska, Rocz. Panstw. Zakl. Hig. 30, 31-37, 433-440 (1979).

28. Zentralinstitut für Ernährung Potsdam-Rehbrücke, Nahrung 14, 703-706 (1970).

29. J. Kovac and M. Henselová, J. Chromatogr. 133, 420-422 (1977).

30. M. Sackmauerová and J. Kovác, Fresenius Z. Anal. Chem. 2929, 414-415 (1978).

31. J. F. Lawrence, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 63, 758-761 (1980).

32. W. Specht and M. Tillkes, Fresenius Z. Anal. Chem. 301, 300-307 (1980).

33. A. Ambrus, J. Lantos, E. Visi, I. Csatlos and L. Sárvári, J. Assoc. Off. anal. Chem. 64, 733-742 (1981).

34. M. A. Klisenko, Personal communication (1982).

الفصـل الثانى والعشــرون

– اتجاهات خاصة بطرق تقدير مخلفات المبيدات :

* المعلومات التى يمكن العمل بدونها او استبدالها .
* هل حقق التحليل شئ ام قلل قيمته ؟
* دمج فرعى تحليل المخلفات (الصناعة والصحة العامة)
* الوقت أو المال .
* إتخاذ او صنع القرار .
* اين نقف واين نذهب من الآن ؟
* **السهولة والتوقعات .**
* قائمة المراجع



اتجاهات خاصة بطرق تقدير مخلفات المبيدات

Trends in pesticide residue methodology

شهد مجال تحليل المبيدات العضوية بدايته منذ اربعون عاما مضت . ولقد اجتهد المؤلف فى تمييز هذه الفترة بالعمل على تقدير المخلفات فى حدود ٢ جزء فى المليون . والغرض من هذا الموضوع توضيح امكانية تحقيق استفادة اكبر من طرق التحليل المتاحة بتوسيع دائرة الاستخدام وتوفير الوقت والجهد وتحقيق التبسيط . وسنتناول بعض النقاط الحيوية مثل :

المعلومات التى يمكن العمل بدونها او استبدالها :

Information we could well afford to do without (or to replace)

بعض محترفى هذا العلم يتعمدون تجاهل عامل الزمن او يغضوا البصر عن هذا العامل ، فهناك بعض البحاث الذين ما زالوا يعملون على ايجاد طرق لتقديرالمبيدات القديمة جدا . ولتوضيح ذلك تم اختيار ثلاثة مركبات بطريقة عشوائية لمناقشتها . ونتساءل ماذا نريد من ٩٠ طريقة جديدة لتقدير الـ د د ت ؟ الاجابة مضيعة للوقت والجهد والمال .. الم يكن من الاجدى ان يعمل هؤلاء البحاث بصورة اكثر نفعا فى مجالات اخرى وعلى سبيل المثال تقديم معلومات اكثر فى مجال تحليل المخلفات فى الاتجاهات التالية :

– دراسة مقارنة لمستويات المخلفات المقدرة فى التجارب الحقلية على المحاصيل المختلفة بهدف التوصية بتحليل المحصول (أ) فقط اذا كان معلوما عدم احتمال وجود مخلفات عالية فى المحصول (ب)) أو

– معلومات عن فقد المخلفات خلال الاستخدام المنزلى او عمليات التصنيع (وتفيد هذه المعلومات فى تخفيف هلع المستهلكين للمبيدات وتقليل السخافات التى يتعرض لها طالبى تسجيل المبيدات من قبل المسئولون عن التسجيل عند قيامهم بحساب درجة تعرض المستهلكون لمخلفات المبيدات فى المواد الغذائية باستخدام مفهوم التعاطى اليومى النظرى الذى يحسب من قيم الحدود القصوى للمخلفات الخاصة بالمبيدات Maximum residue limits (MRL's) .

والبعض الاخر ممن يقومون بتحليل المخلفات يركزون جهودهم للبحث فى طرق تحليل المركبات النقية وعلى سبيل المثال البحث فى ايجاد طرق لفصل وتقدير المبيدات فى غياب المادة النباتية أو الحيوانية أو غيرها . وهذا الخط من البحث يماثل من يبحث عن طبيعة السخرية (quiz) حيث يترك للآخرون اكتشاف ما اذا كانت النتائج التى تحصلوا عليها لها قيمة تطبيقية أم لا . أما القائمين بالتحليل الذين تخصصوا فى البداية فى تطوير العمل بالاجهزة ولهم اسهامات مقبولة فى تسهيل عمليات التحليل وتقليل متطلباتها واختصار وقت تنفيذها مما ادى الى تحسين اقتصاديات التحليل وتحقيق درجة عالية من الدقة . ومع هذا يعتبر هذا العمل غير مقبولا اذا لم تحقق النتائج

اتجاهات خاصة بطرق تقدير مخلفات المبيدات

Trends in pesticide residue methodology

شهد مجال تحليل المبيدات العضوية بدايته منذ اربعون عاما مضت . ولقد اجتهد المؤلف فى تمييز هذه الفترة بالعمل على تقدير المخلفات فى حدود ٢ جزء فى المليون . والغرض من هذا الموضوع توضيح امكانية تحقيق استفادة اكبر من طرق التحليل المتاحة بتوسيع دائرة الاستخدام وتوفير الوقت والجهد وتحقيق التبسيط . وسنتناول بعض النقاط الحيوية مثل :

المعلومات التى يمكن العمل بدونها او استبدالها :

Information we could well afford to do without (or to replace)

بعض محترفى هذا العلم يتعمدون تجاهل عامل الزمن او يغضوا البصر عن هذا العامل ، فهناك بعض البحاث الذين ما زالوا يعملون على ايجاد طرق لتقديرالمبيدات القديمة جدا . ولتوضيح ذلك تم اختيار ثلاثة مركبات بطريقة عشوائية لمناقشتها . ونتساءل ماذا نريد من ٩٠ طريقة جديدة لتقدير الـ د د ت ؟ الاجابة مضيعة للوقت والجهد والمال .. الم يكن من الاجدى ان يعمل هؤلاء البحاث بصورة اكثر نفعا فى مجالات اخرى وعلى سبيل المثال تقديم معلومات اكثر فى مجال تحليل المخلفات فى الاتجاهات التالية :

- دراسة مقارنة لمستويات المخلفات المقدرة فى التجارب الحقلية على المحاصيل المختلفة بهدف التوصية بتحليل المحصول (أ) فقط اذا كان معلوما عدم احتمال وجود مخلفات عالية فى المحصول (ب)) أو

- معلومات عن فقد المخلفات خلال الاستخدام المنزلى او عمليات التصنيع (وتفيد هذه المعلومات فى تخفيف هلع المستهلكين للمبيدات وتقليل السخافات التى يتعرض لها طالبى تسجيل المبيدات من قبل المسئولون عن التسجيل عند قيامهم بحساب درجة تعرض المستهلكون لمخلفات المبيدات فى المواد الغذائية باستخدام مفهوم التعاطى اليومى النظرى الذى يحسب من قيم الحدود القصوى للمخلفات الخاصة بالمبيدات (Maximum residue limits (MRL's .

والبعض الاخر ممن يقومون بتحليل المخلفات يركزون جهودهم للبحث فى طرق تحليل المركبات النقية وعلى سبيل المثال البحث فى ايجاد طرق لفصل وتقدير المبيدات فى غياب المادة النباتية أو الحيوانية أو غيرها . وهذا الخط من البحث يماثل من يبحث عن طبيعة السخرية (quiz) حيث يترك للآخرون اكتشاف ما اذا كانت النتائج التى تحصلوا عليها لها قيمة تطبيقية أم لا . أما القائمين بالتحليل الذين تخصصوا فى البداية فى تطوير العمل بالاجهزة ولهم اسهامات مقبولة فى تسهيل عمليات التحليل وتقليل متطلباتها واختصار وقت تنفيذها مما ادى الى تحسين اقتصاديات التحليل وتحقيق درجة عالية من الدقة . ومع هذا يعتبر هذا العمل غير مقبولا اذا لم تحقق النتائج

هذه الاهداف او لم يمكن الاستفادة بها من قبل الآخرين .

هل حقق التحليل شئ أم قلل قيمتها ? Does it make sense or is it worth it

بالرغم من ان القائم بالتحليل غالبا ما يكون مجبرا على عمل مجهودات غير عادية ، الا ان هناك تزايد مضطرد من قبل مسئولى التسجيل والتشريع فيما يتعلق بالمتطلبات اللازمة تحت دعوى تحقيق أمان اكثر للمستهلكين والبيئة ومستخدمى المبيدات . ويتبادر الى الاذهان المطالب الخاصة بضرورة اجراء دراسات الانهيار فى قش الفول ... ومن الأفضل الاشارة الى مثالين يتسما بالتهويل وهما :

– الاتجاه نحو ادخال نواتج التمثيل عالية القطبية او المرتبطة عند تعريف مخلفات المبيد كما فى أوربا ...

– معيار السوق الاوربية المشتركة فى مياه الشرب والذى حدد الحد الاقصى للمخلفات بمقدار ١ر جزء فى البليون لكل مبيد منفرد ومستوى ٥ر جزء فى البليون كمخلفات كلية من جراء تتابع التطبيق بخطأ لا يتعدى ± ١٠٪ . ولسنا فى حاجة للقول ان هذه المتطلبات ستقلل لحد كبير من نسبة استخدام المبيدات فى دول السوق . بالنسبة للمثال الأول .... قد يسأل البعض عن كيفية إدخال جميع المركبات فى طريقة تقدير المخلفات المتعدد بما يتلائم مع أغراض الإستكشاف أو التسجيل أو التداول .

بالنسبة للمثال الثانى يقصد المؤلف الاشارة الى ان دول السوق الاوربية حددت مهام القائم بالتحليل من البداية بوضع متطلبات ما قبل التحليل لمعظم المبيدات بهدف التشريع .

وهذا مثير للدهشة ولكنه وضع طبيعى للتعارض الموجود بين السياسة والاراء العامة والعلوم والتى فيها اصبح التحليل المخلفات مغلولا . ومن المؤسف ان متطلبات التسجيل والتشريع تفتقر الى التجانس والتناسق ومن ثم لا ستيفاء الكم الهائل من النتائج التى تسفر عنها التحليلات الضخمة على المستوى العالمى .

دمج فرعى تحليل المخلفات (الصناعة و العام) Merger a long way off :

هناك قسمان لتحليل المبيدات تبعا لاغراض الاستخدام هما الصناعى والعام Industrial and Public . وتبدو اهمية الدمج بين هذين الاتجاهين فى المستقبل القريب امرا فى غاية الاهمية . القسم الاول يختص باعداد البيانات الخاصة بتسجيل المبيدات بينما القسم الاخر يختص بتحديد الحدود القصوى للمخلفات MRL's واستكشاف المخلفات فى الغذاء والاعلاف ومكونات البيئة الاخرى . وكلا القسمان يجب ان يطورا ويهيئا انفسهما لظهور العديد من مبيدات الآفات التى تستخدم بتركيزات اقل كثيرا من المبيدات التقليدية القديمة . وعلى ذلك يضطلع الفريقان بمهمة تطويع الاتجاهات ذات الفعالية والتكاليف العالية . ويقوما كذلك بوضع نظام خدمات على اعلى مستوى يحقق كفاءة الاتصالات بين القائمين بالتحليل لأن المحصلة النهائية لهذا العمل تتمثل فى

لايجاد وتطوير طرق عملية للتحليل المائى الكمى للمواد المرتبطة والموجودة فى الوسط المحتوى على المبيد .

الوقت أو المال Time or money :

تستطيع المعامل التى تجرى التحليلات العامة استغلال مواردها بصورة اكثر اقتصادية اذا ركزوا عملهم على تقدير المخلفات ذات الاهمية التوكسيكولوجية وكذلك فى المواد الغذائية التى تستخدم بصورة ضرورية وثابتة بكميات كبيره . والمشكلة موضحة فى الشكل رقم (٢) . وفى الرسم العلوى يمثل الجزء المظلل العلاقة بين المبيد والسلعة الموجود فيها والتى تمثل الاهتمام الاكبر من قبل مسئولى التشريع والتحليل . وبمجرد وضع وتحديد النسبة التى تتطلب اجراء طرق التحليل المتعدد يصبح من السهل على القائم بالتحليل التركيز على ايجاد وتطوير طرق مناسبة للجزء الباقى بما يساهم فى تقديم حماية افضل للمستهلك (الرسم السفلى) . ويفيد هذا النظام على النطاق الدولى الواسع وفى المناطق الجغرافية والثقافية والزراعية المحددة .

وهناك اعتبارات معينة ومحددة تحدد اختيار مركب معين لاجراء تجارب المخلفات عليه واعتباره ممثل لمبيد معين ونواتج تمثيله ويطلق عليه المركب الدليل indicator compound وفى هذا الاقتراب يتم تحليل مخلفات هذا المركب فقط وبناء على النتائج توضع الاستنتاجات الخاصة بالمبيد المقابل . ولاختيار مركب منفرد لتمثيل المخلفات تتخذ المعايير الآتية :

- يمثل تركيز هذا المركب علاقة معروفة مع تركيز المبيد ذو التأثيرات التوكسيكولوجية المؤكدة .
- يجب ان يكون المركب ذو ثبات كافى بما يسمح بتكرار صحيح لنتائج التحليل .
- يجب ان يكو ن المركب متوفرا كمادة قياسية فى التحليل .
- يجب ان يكون قابل للاسترجا ع فى طرق تحليل المخلفات المتعددة .

واختيار المركب الدليل يجب ان يقوم به المحترفون ذوى الخبرة الفائقة فى مجال التحليل تبعا للأسس الدولية المتفق عليها ، وعلى سبيل المثال ، ما تبذل من مجهودات فائقة من قبل منظمة الاغذية والزراعة FAO وكذلك الصحة العالمية WHO للتنسيق بين الدول فى مجال تحديد الحدود القصوى للمخلفات MRL's من خلال الوكالة الخاصة بالدستور الغذائى لمخلفات المبيدات (CCPR) وحل المشاكل الناجمة عن الغرور المحلى وتقديم مقاييس ومعايير خاصة . ولقد وضعت "CCPR" الحدود القصوى لمخلفات ١٥٠ مركب فى اكثر من ٢٥٠٠ سلعة غذائية استنادا لتجارب التقييم خلال عشرين عاما من قبل FAO/WHO خلال الاجتماعات المنتظمة المشتركة بينهما فى مجال المخلفات (JMPR) . وتتركز هذه المجهودات على المبيدات الاكثر شيوعا وتواجدا فى المواد الغذائية واسعة التبادل على المستوى العالمى . وتجدر الاشارة كذلك الى التوصيات الخاصة بطرق التحليل المعتمدة من قبل لجنة (CCPR) وكذلك اسلوب اخذ العينات ونواتج التمثيل التى

يشملها التحليل ، نظرا لأن هذه العوامل تؤخذ فى الاعتبار باشكال مختلفة مما يجعل من الصعب ان لم يكن مستحيلا مقارنة النتائج المتحصل عليها من المعامل المختلفة فى ارجاء العالم .

والقائمون بتحليل المخلفات واستكشاف وجودها ومستوياتها فى المواد الغذائية مسئولون كذلك عن التأكد من اذا ما زادت الحدود القصوى للمخلفات عن القيم الموضوعة والمحددة . وعليهم ان يقوموا بتحليل المواد الغذائية للكشف عن عدد كبير من المبيدات على مستويات مختلفة بدرجة كبيرة وكل هذا مصحوبا باختلافات كبيرة فى الوقت والتكاليف . ونستهدف فى هذا المقال تبسيط الطرق الغير شائعة . ومنذ عشرين عاما تم وضع اسس نظام التقدير ذو الثلاثة خطوات بواسطة الباحث Francis A. Gunther الذى توفى فى العام الماضى بعد ان ساهم بمجهود وعلم غزير فى مجال تحليل مخلفات المبيدات .

والخطوات التى تناولها هذا النظام والذى يمكن استخدامه فى تحليل المخاليط يشتمل على :

١ – تقدير مقارن المكونات Constituent screening التى يعتقد بوجودها مع الاستعانة بالحدود الدنيا لمعايير الكشف ،

٢ – تقدير فصلى Segregative screening ويعنى فصل العينات التى تحتوى على مخلفات اعلى من المسموح به عن تلك العينات التى تحتوى على مخلفات اقل من المسموح به ،

٣ – تقدير مقارن كمى quantitative screening ويقصد به تقدير المركبات المتوقع وجودها . وفى عام ١٩٨٤ تم نشر نتائج حصر مخلفات مبيدات الآفات فى المواد الغذائية والتى اجرتها الجمعية البريطانية للقائمين بالتحليل ولقد كلفت المعامل بعمل تقارير لتوصيف مستويات المخلفات وتصنيفها تبعا للأقسام المختلفة من المبيدات .

وهناك ميزة كبيرة فى استخدام المستويات الموصفة والتى تضمها التقارير والتى تحققت فى جميع المعامل حيث تحدد وتزود المختصين بمستوى يقل عن الحد الاقصى للمخلفات بعامل معين . وفى هذا المقام تم وضع تصور معين من قبل لجنة المخلفات التابعة لهيئة "GIFAP" ولقد بنى هذا التصور على قبول مبدأ تعريف التركيز الادنى الواجب تقديره فى العينة "To be determined "MCD" Minimal Conc." . ولقد تم توصيف هذا التركيز على انه جزئية من الحد الاقصى الموجود او المتوقع او المقدر . ويجب ان تؤخذ مفاهيم مقارنة أو متشابهة لتحليل العينات البيئية . وهذا الاقتراب او الاسلوب يسمح بتحديد الأمان بطريقة معقولة التكاليف . ويفيد كذلك فى تمكين القائمين بالتحليل لابتكار ووضع طرق مناسبة . والشكل التالى يوضح تصور تقدير التركيزات الدنيا بناء على الحدود القصوى للمخلفات .

الحد الاقصى للمخلفات (MRL)	التركيزات الدنيا الواجب تقديرها (MCD)
	(مللجم / كجم)
اكثر من ١ر تساوى ٥	٥ر
٠٥ر ← ٥	١ر - ٥ر
٠٥ر ← ٥ ر	٠٢ر - ١ر
اقل من ٠٥ر	نصف الحد الاقصى

اتخاذ او صنع القرار Decision-making :

من المشاكل الكبيرة التى لم تحل حتى الآن بصورة مرضية تلك التى تتعلق بالمعايير التى يتخذها مسئول التحليل للوصول الى قرار يحدد بشكل قاطع ما اذا كانت الحدود القصوى للمخلفات ستزداد ام لا . ولهذا الغرض تستغل مفاهيم اثر خطوط العرض على اساس الدور الذى تؤثر به على اختلاف حدود المخلفات عندما تتوفر كل مقومات التقدير السليم وعندما تكون القيم اعلى من الحدود القصوى المسموح بها "MRL" . ومن البساطة اتباع الاسلوب الذى اقرته ووضعته الـ "CCPR" والذى فيه توضع نتيجة التحليل فى رقم مؤكد واحد One significant figure ويقارن بالحد الاقصى للمخلفات . ويبنى هذا الاسلوب على اساس ان الـ MRL نفسه يوصف بقيمة واحدة فقط مؤكدة معنويا .

والكلام عن القيم المؤكدة المعنوية يعيد الى الاذهان ان القائمين بتحليل وتقدير المخلفات لم يتفقوا بعد على تحديد حدود ومستويات التقدير او الكشف . والقرار النهائى للقائم بالتحليل والذى يقرر عدم احتواء العينة على اية مخلفات يمكن تقديرها يعتبر انعكاس ليس فقط لمهارة القائم بالتحليل ولكن على الحدود التى وضعها للتقدير كذلك . ومرة اخرى نجد انفسنا امام اسراف شديد فى طرق تحليل المركبات النقية بحيث يقوم المحلل باعتبار اقل كمية يمكن تقديرها من المبيد النقى فى المحاليل القياسية كحد مقبول للتقدير او الكشف عن المخلفات . وتعريف حد التقدير والكشف فى تحليل المخلفات يأخذ ثلاثة اعتبارات هى : الا تكون اقل من حدود الكشف ، الا يكون معدل الاسترجاع اقل من ٧٠ - ٨٠٪ ، وكذلك معامل الاختلاف لا يزيد عن ٢٠٪.

اين نقف واين نذهب من الآن

Where do we stand, and where do we go from here ?

فى عام ١٩٨٥ ومن خلال الاستعراض الخاص بتحليل مبيدات الآفات الذى وضعه Sherma and Zweig تم الاعلان بان طرق التحليل التى لها آفاق مشجعة ومؤكدة للتطوير هى الكروماتوجرافى الغازى الشعرى Capillary gas chromatography وكذلك الكروماتوجرافى

الغازى المرتبط مع مقياس الكتلة GC/mass spectrometry لتعريف مخلفات المبيدات ونواتج التمثيل والملوثات وكذلك الـ HPLC المزود بنظم معكوسة ومرتبطة وكاشفات كهروكيميائية ، وكذلك اجهزة الكروماتوجرافى على الالواح الدقيقة عالية الكفاءة (HPLC) والتقدير الكمى باجهزة الطيف الذاتية الالية . ولقد اشار المؤلفون ان حساسية معظم الطرق لا تقل عن مستوى البيكوجرام ولو ان الكروماتوجرافى الغازى الشعرى قادر على تقدير كميات فى حدود الفيمتوجرام Femtogram وتم توضيح وتأكيد على ان العينة النظيفة تعطى نتائج افضل Clean sample .

يجب ان يكون هدف عملية الاستخلاص "Extraction" القدرة على الإسترجاع الكامل لمكونات وسط التحليل وفى نفس الوقت تقوية المخلفات بعشرات المرات ، وهذا غير ممكن التحقيق بطرق الاستخلاص التى يستخدم فيها نظام السائلين Liquid/liquid ولهذا السبب حدث تزايد فى احلالها بطرق الاستخلاص السائلة /الصلبة Liquid/solid والتى يمكن ان تزدوج مباشرة مع الـ HPLC .

توضع الامال على طرق التحليل المختصرة والمصغرة "Miniaturization" حيث يتبدأ اولى خطوات الاختصار من الخطوة الاولى وهى الاستخلاص . ولو اننا لا نملك حاليا نتائج كافية تعضد وتؤكد لأى مدى يمكن تقليل حجم العينة دون الاضرار بطبيعة العينة الممثلة للواقع . ومع ذلك ظهر انه من الممكن تقليل وزن عينة التحليل بحيث تكون ٢ - ٥ جرام دون حدوث نقص ملحوظ فى دقة الطريقة بشرط اخذ عينة التحليل من عينة حقلية ثم توزيعها بتجانس بحيث لا يؤثر هذا التوزيع على المخلفات . وطريقة التحليل المختصر الدقيق تركز على المحاليل الناتجة من الاستخلاص التقليدى . ومن المدهش انه بتقليل خطوات تنظيف العينة Clean-up أمكن توفير الاحتياجات الخاصة بالاجهزة والجواهر الكشافة والوقت ومكان التحليل فى داخل المعامل ، وعلى سبيل المثال تتحقق الفوائد السالفة الذكر باستخدام الاعمدة الدقيقة وتقليل خطوات التقدير . وليكن معلوما ان اعمدة الادمصاص الدقيقة (المصغرة) ليست مشجعة لتحقيق ازالة كافية للمستخلصات المرافقة "Co-extractives" خاصة مع طرق تقدير مخلفات المبيدات "MRP's" نظرا لان معظم المخلفات محل التساؤل وكذلك مرافقات الاستخلاص المطلوب ازالتها لا تختلف كثيرا فى القطبية . والآن نقول ان الطرق المختصرة والمصغرة الدقيقة لتقدير مخلفات المبيدات تتطلب اجهزة خاصة ومعدات تماثل المستخدمة فى الكيمياء العضوية الدقيقة Organic micro-chemistry والتى ثبت كفاءتها مع المخلفات .

لقد تحسنت طرق تقدير المخلفات الدقيقة والمصغرة باستخدام المواد القياسية الداخلية In-ternal standard (IS) بواسطة الباحث R.J. Hemingway وآخرون وبالرغم من ذلك لم يشيع إستخدام هذه المواد فى تحليل مخلفات المبيدات ويتركز النقد على اساس ان مرافقات الاستخلاص ونواتج تحول المبيدات لابد وان تغير من حجم قمة المنحنى القياسى وتعطى نتائج مضللة وغير حقيقية . ويمكن التغلب على هذه المشكلة بالعناية فى اختيار المواد الداخلية (IS) المناسبة او استخدام مادتين قياسيتين . وهناك بديل ممتاز يتمثل فى استخدام الصور المشععة من المبيدات

المطلوب تحليلها كمواد قياسية . ولا يمكن انكار مميزات استخدام المواد القياسية الداخلية والتى تتمثل فى الآتى : لا تعتمد على معدلات الاسترجاع والتغيرات التى تحدث فيه حيث يمكن التغاضى عن القصور فى كفاءة الخطوات المتتابعة الفردية . ولا تعتمد بصورة مؤثرة على المهارات الفردية للقائم بالتحليل ، ومن المميزات ايضا ان كل عينة لها معدل الاسترجاع الخاص بها وهذا لا يستدعى اجراء الاسترجاع على عينات خاصة اضافية ، وفى التقدير المتعدد للمخلفات يمكن استخدام ازواج من المركبات القياسية الداخلية (IS) بحيث تمثل بعض اقسام المبيدات ، وتتميز هذه الطريقة بعدم الحاجة الى قياس حجم المحلول النهائى والتى تركز الى نقطة او نقطتين ، ولا يمكن التغاضى عن نقطة الضعف الخاصة بعدم تزويد نظم التحليل الاوتوماتيكية بما يسمح بالعمل مع هذه الحجوم الصغيرة .

وفى مجال طرق التحليل الكروماتوجرافى لا توجد اية إختراعات بارزة فى الافق ولو ان هناك تطويرات مشجعة . واستمرار التقدم الكبير الذى تحقق فى الكروماتوجرافى السائل لم يحقق الهدف المنشود نظرا لعدم توفر الكاشفات النووية المتخصصة. واستخدام الكاشفات الكهروكيميائية (مع مشاكلها المتمثلة فى تلوث الالكترود) والكاشفات الضوئية ستظل صالحة لمجاميع قليلة من المبيدات . وحديثا تم اختراع كاشف ثلاثى يمكنه التقدير المتتابع عن طريق امتصاص الاشعة فوق البنفسجية والفلورسنت والتوصيل فى خلية واحدة . وهناك تساؤلات عن احتمالات دمج هذا الكاشف مع الكاشفات الاخرى مثل اللهب الأيونى وصائد الالكترونات . وكفاءة الـ HPLC ليست محل تساؤل نظرا للثقة الكبيرة فى النتائج التى يعطيها عن المخلفات الا انه فى تطوير مستمر فى اتجاه الكشف عن مواد للفصل فى الاعمدة وهذه المواد تشتمل على الاوساط المعكوسة من البوليمرات الثابتة لفصل المركبات القطبية ومثال ذلك التطور الذى احدثته شركة Interaction Chemicals Inc. كما يعرف بالوسط الكبير Macrophase MP-1 . والآن اصبح التقدير الكمى ممكنا نتيجة لدمج الكروماتوجرافى السائل مع طيف الكتلة .

فى الوقت الحالى يستخدم نظام HPLC مع الاعمدة التقليدية ذات الثقوب الواسعة ذات القطر الداخلى ٤ – ٥ ملليمتر ولو ان هناك ميل مستمر لاستخدام الاعمدة ذات الأقطار القليلة الاقطار الداخلية . ولقد استحدثت ثلاثة انواع من الاعمدة تسمى الاعمدة المملؤة ذات الثقوب الضيقة أو القليلة ، الاعمدة المملوءة ذات الانابيب الشعرية الدقيقة والاعمدة الشعرية ذات الانابيب المفتوحة . وجميعها تعرف او توصف على انها « اعمدة دقيقة الثقوب Microbore columns" وفى الوقت الحالى اتضح ان الاعمدة ذات الثقوب الضيقة اكثرها ملائمة للعمل الروتينى وكذلك ثبت ان اعمدة الـ HPLC التقليدية ضرورية بشرط ان تكون ذات اقطار داخلية قليلة .

المطلوب الحصول على كثير من الخبرات من جراء التحليل الروتينى تمكن من اختبار حقيقة ما يوجه لنظام الاعمدة ضيقة الثقوب من انتقادات . من المعلوم ان اجهزة HPLC ليست مناسبة بوجه عام للعمل بهذه الاعمدة حيث انها تتطلب تحويرات مكلفة جدا من قبل القائم بالتحليل .

من جهة اخرى يمكن بهذا الاسلوب توفير الكثير من التكاليف لصالح المستهلكون . من اوجه النقد كذلك ان تقليل حجوم منحنيات القياس Peak volumes تمكن من الكشف عن حدود منخفضة من المخلفات (زيادة فى حساسية الكتلة Mass sensitivity مما يستوجب دمج الاعمدة السابقة معا حتى يمكن التغلب وحل مشاكل الفصل الصعبة حيث تحقق هذه الطريقة الفعالة فصلا سريعا كما ان تقليل اقطار الاعمدة يسهل برمجة الحرارة . ولقد اظهرت الاعمدة ضيقة الثقوب مميزات واضحة للتوافق مع انواع مختلفة من طرق التحليل .

على الرغم من ان الكروماتوجرافى الغازى يعتبر تكنيك ناجح الا انه ما زال يقدم جديدا كل يوم عن طريق تحقيق مستويات كفاءة عالية . وهذا تحقق من جراءتحسين وتطوير تكنولوجيا الاعمدة والكاشفات . ولقد استقر الرأى على اختيار الاعمدة الشعرية واسعة الثقوب بالأقطار الداخلية التى تتراوح من ٣٢ر – ١ ملليلتر . وفى منطقة ٥٣ر ملليمتر وهذا يعتبر بديلا للعمود المعبأ . من اهم مميزات هذه الاعمدة السرعة وتكرار الحصول على نفس النتائج Reproducibility وخمول السطح والثبات الكيميائى والحرارى ونقص التسرب وسهولة التغييرات الداخلية فى الجهاز خاصة مع اعمدة السليكا المرتبطة مع الاوساط الثابتة ذات الروابط الكيميائية . ولقد أدت امكانية تعديل سمك الفليم (لأكثر من ٥ ميكرومتر) الى الحصول على اعمدة تمكن من تحليل مخاليط المواد شديدة التطاير او عالية الغليان وكذلك إمكان التحليل مع مختلف الاعمدة ذات السعات المختلفة . لقد ثبت ان الدمج بين الاعمدة التقليدية والمعبأة مع الاعمدة الشعرية واسعة الثقوب واستخدام الكشاف المندمج بين N/P/S (نتروجين / فوسفور / كبريت) ذات مستقبلا مشجعا .

هناك تكنيك اخر جديد يسمى الكروماتوجرافى السائل فائق الحد Supercritical fluid chromatography فى الاعمدة المعبأة والشعرية . ولو ان هذا التكنيك نفسه لا يعتبر جديدا بالمعنى المفهوم الا ان الاهتمام به بدأ يتعاظم فى الوقت الحالى واصبح المختصوص ينصحون باستخدامه فى تحليل مخلفات المبيدات . حيث ان الـ SFC لا يعانى من الحدود الخاصة بالتطاير كما هو الحال فى الكروماتوجرافى الغازى ، حيث يتمكن هذا التكنيك من تحليل المركبات المتحولة بالحرارة والغير متحولة بالوسائل الاخرى Underivatized وكذلك المواد الذائبة ذات الاوزان الجزيئية العالية بدرجة تفوق الكروماتوجرافى الغازى العادى . والعمود الشعرى فى تكنيك SFC يتوافق مع انواع عديدة من كاشفات الـ GC العادى و HPLC كذلك . وهناك دلائل على ان مقدرة الـ SFC تفوق الـ HPLC بخمسة اضعاف وكذلك سرعة التحليل تزيد بمقدار من ٥ – ١٠ امثال ما يحدث مع الـ HPLC . وهناك امكانية استخدام الـ SFC فى إستخلاص المخلفات المرتبطة فى عينات التربة والنبات .

لقد حلت طريقة الكروماتوجرافى على الالواح (TLC) محل الكروماتوجرافى الورقى استنادا الى صلاحيتها وبساطتها للتحليل الكيفى والكمى للمبيدات بالرغم من الصعوبات فى تمثيل البقع

مع توفر الاجهزة المتطورة والخدمات وقطع الغيار والمواد المستهلكة . وفى هذا المقام نود التركيز على اهمية وضرورة الاستمرار فى العمل وتطوير هذا الاسلوب وعدم تناسيه او اهماله .

من اكثر الطرق تشجيعا الكروماتوجرافى على الالواح المتطورة والذى يطلق عليه الطريقة الالية المتعددة المتطورة (Automatic Multiple Development (AMD وهو البرنامج المحسن لذلك الذى وضعه Perry والمسمى باسمه عام ١٩٧٣ . فى هذه الطريقة يتعرض لوح الـ TLC للعديد من المعاملات الكروماتوجرافية ، حيث يجرى على الكروماتوجرام من ١٠ – ٢٥ دورة منفردة ويزداد طول الدورة عن سابقتها بمعدل زيادة ثابت من ٣ – ٥ ملليمتر . وبين الدورات يتم ازالة الوسط المتحرك من الكابينة ثم يجفف اللوح عن طريق التفريغ فى الكابينة ثم معاودة تزويد الكابينة بالوسط المتحرك . غالبا ما تستخدم المواد الازاحية التى تتدرج فى قطبيتها . وهذا التكنيك يحدث ما يسمى بالتأثير المركز حيث تتكون حزم تمثل المركبات قريبة جدا من بعضها على الكروماتوجرام . وفى البرنامج الذى تضمن ٢٥ خطوة تستغرق كل العملية الكروماتوجرافية ٤ ساعات .

الطريقة الالية المتعددة AMD تسمح بتدرج الازاحة على السليكا جيل فى نظام HPTLC مما يغطى مدى واسع مع القطبية . والنظام الكامل الاوتوماتيكى متوفر حاليا على النطاق التجارى (CAMAG) . وتستخدم المركبات او المستخلصات على صورة شرائط بطول ٤ ملليمتر بالوسائل الالية ومن ثم يمكن تنفيذ ١٨ كروماتوجرام على لوح واحد فقط . وتقييم وتعرف الكروماتوجرامات باستخدام فاحص الالواح الكروماتوجرافية (TLC Scanner) المندمج مع رسام متعدد الالوان وحاسب آلى . التقدير الكمى لكل كروماتوجرام متعاقب يتم عن طريق قياس الانبعاث فى منطقة الضوء المرئى او فى نطاق الاشعة فوق البنفسجية على الموجات الضوئية المناسبة او بقياس الفلورسينس . فى هذا السبيل يميز المركب ليس فقط بالمسافة التى تحركها على اللوح ولكن بمعدل الامتصاص على الموجات الضوئية المختلفة . وتقييم لوح واحد به ١٨ كرماتوجرام بهذه الطرق تستغرق ٣٥ دقيقة لكل موجة ضوئية .

لقد استخدم هذا التكنيك بنجاح منقطع النظير فى المعامل لتقدير مخلفات المبيدات فى الماء الارضى وماء الشرب فى حدود تركيزات اقل من واحد جزء فى البليون ppb . كما يستخدم تكنيك AMD لتحليل المخلفات فى المواد النباتية بادماجه مع عمود HPLC الضيق المسامية الذى يعطى معدل انسياب مقداره ٣٠ ميكروليتر/دقيقة والذى يسمح بالإستخدام المباشر على لوح الكروماتوجرافى TLC .

السهولة والتوقعات Ease and Expectations :

مع كثرة الكلام عن الطرق المبسطة لتقدير المخلفات يجب توضيح مفاهيم بعض المسميات ، فمن المتفق عليه ان تبسيط طريقة التحليل مر بثورة كبيرة منذ فترة طويلة لأنه من الصعب ان يعرض القائمون بالتحليل انفسهم للنقد الذاتى العنيف . وليكن معلوما ان الفجوة بين التعقيد والتبسيط يمكن تجاوزها بتقليل الاحتياجات وهذا يجرنا للقول بان الطرق البسيطة لا يمكن ولن تكون ابدا بديلا للطرق المتطورة .

بعيدا عن العلاقة بين التكلفة والكفاءة نقرر ان المطلوب هنا هو تطوير طرق متكاملة لتقدير المخلفات تتميز بسهولة التداول دون الحاجة لاستخدام الاجهزة المعقدة . يجب التفرقة هنا بين الطرق المبسطة التى تعمل بشكل مرضى بواسطة ذوى الخبرة الكبيرة فى مجال التحليل وبين الطرق التى تتطلب مهارة اقل . الطرق التى تستخدم لتحليل العينات الحقلية يجب ان تحقق بعض المتطلبات الاخرى عن تلك التى تستخدم للاغراض الروتينية . ومن ثم يمكن القول ان الطرق المبسطة تستخدم اساسا لأغراض الغربلة Screening وليست كأساس للاجراءات والتحليلات الرسمية . لقد تم توصيف بنود وشروط الطرق التى يمكن اعتبارها مبسطة "Simplified" بواسطة لجنة مخلفات المبيدات (CCPR) عام ١٩٨٥ . ومن بين ٢٩٠ طريقة موصى بها من قبل الـ CCPR تم اختيار ٢٢ طريقة مبسطة تبعا لهذه المعايير . من الواضح ان معظم هذه المعايير يمكن تحقيقها بشكل مرضى من خلال وسائل قليلة مثل الكروماتوجرافى الالواح TLC والطرق اللونية " Colorimetry " .

فيما يلى معايير تقسيم طرق التحليل على انها مبسطة Criteria :

- استخدام كروماتوجرافى الالواح TLC والطرق الاسبكتروفوتومترية وكذلك الكروماتوجرافى الغازى الاساسى او HPLC فى خطوة التقدير .
- استخدام الحجوم البسيطة من المذيبات .
- لا تتطلب او تتطلب بشكل اولى عمليات التنظيف Clean-up .
- لا تحتاج او تحتاج للقليل جدا من الجواهر الكشافة .
- تكون الطريقة نشيطة او عالية الكفاءة بدرجة كافية تمكنها من الصمود ولو قليلا امام الظروف المعملية النموذجية .

لقد اصبح كروماتوجرافى الالواح TLC فعلا اسلوبا واسع الانتشار فى هذا المجال نظرا لاستخدامها الواسع بواسطة المحللين اللذين لا يملكون وسائل اخرى . وفى المقابل قل الاهتمام بالطرق اللونية Colorimetric methods مما يعد خسارة كبيرة فى مجال تحليل المخلفات . يتفق الجميع على ان نقص التخصص فى الطرق اللونية يمكن تعويضه فى حالات كثيرة ولو جزئيا عن طريق اختيار طرق متخصصة نسبيا لما قبل التنظيف وهى متوفرة حاليا . كذلك يجب الاهتمام مرة اخرى بالطرق التى اهملت مثل التقطير المرافق بالبخار او الاندفاع " Sweep " . ولسوء الحظ انه امكن تحقيق تقدم بسيط فى اتجاه تطوير اختبار بسيط للعينات الحقلية والتى لا تتطلب بالضرورة خبرة فى التحليل لاستخدامها . وعلينا ان ننتظر بالترقب ما سوف تسفر عنه تجارب استخدام الاختبار الورقى " Paper technique" وعلى سبيل المثال تذاكر الانزيم Enzyme tickets او تطوير الاختبارات الحيوية المعروفة بالـ Immuno-assays للاستخدام الميدانى خارج المعامل .

والآن جاء دور الكلام عن المجالات التى ما زلنا بعيدين عن تحقيق نجاحات حقيقية فيها . ؟

وهذه تتمثل فى عدم امكانية اجراء الاستخلاص الالى والتنظيف الالى للمستخلصات والتى تمكن من تبسيط الخطوات واسراع عمليات التحليل . فى هذا المقام يصبح من المثير للدهشة متابعة تطور استخدام الانسان الالى فى معامل التحليل ومدى تحقيق قيامها ببعض الخطوات الضرورية قبل التقدير النهائى وهذا يمكن اجراؤه بجهاز واحد او من خلال سلسلة من العمليات ويبرمج الانسان الالى بحيث يتوافق مع عمل اجهزة التحليل .

والسؤال الان ... على أى شئ نكافح ؟ على القائم بتحليل المخلفات عدم الاهتمام بمدى تكلفة الكشف عن الآثار من خلال عمليات التحليل . وعليهم الاهتمام بتأدية الواجبات المنوطة بهم خاصة تفسير ما يجدوه وتمثيل النتائج . وعليهم ايضا العمل على تطوير الطرق الموجودة فعلا . وهذا يزيد من كفاء ومقدرة معمل التحليل . يجب ان توضع معايير احصائية للتأكيد وقبول النتائج . ما زالت طرق الاسترجاع فى حاجة الى تطوير كبير وكذلك ضرورة اللجوء الى الاختبارات التأكيدية فى معامل اخرى . يجب ان يجرى ذلك بصورة الزامية اجبارية كأساسيات لوصف طرق التحليل خاصة اذا كانت لمركب واحد .

فى عام ١٩٨٥ عقد مؤتمر فى مدينة بتسبرج عرض فيه ١٢٠٠ بحث من قبل ٢٠٠٠ مختص فى مجالات التحليل من بينها ١٢ورقة فقط عن المبيدات . فى النهاية لم يمكن استنتاج ما اذا كنا نعرف كل شئ او لا نعرف شئ على الاطلاق فى هذا المجال .

REFERENCES قائمة المراجع

These references are given as recent examples only, and no lattempt has been made to achieve a fuller literature coverage of the topics treated in this paper.

1. Official Journal of the European Commuities, L 229, Vol. 23, 11-29, Aug. 30, 1980.

2. Bates, J. A. R. and S. Gorbach, Pure & ;Appl. Chem. 54, 1361-1450 (1982).

3. A. Ambrus and H. -P. Thier. Pure & Appl. Chem. 58, 1035-1042 (1986).

4. FAO/WHO, FAO Plant Production and Protection Paper 56, p. 4-5, Rome, 1984.

5. CCPR, Guide to Codex Recommendations Concerning Pesticide Residues, FAO/WHO, Rome a) Part 8, CAC/PR 8 (1985); b) Part 5, CAC/PR 5 (1984); d c) Part 6, CAC/Pr 6 (1984), d) Part 2, CAC/PR 2 (1985).

6. W. E. Westlake and F. A. Gunther, Residue Rev. 18, 175-217 (1967).

7. R. S. Nicolson, J. Assoc. Publ. Analysts 24, 27-39 (1986).

8. LGIFAP, Residue Committee, Doc. C. 14533, October 3, 1985.

9. FAO/WHO, CCPR meeting 1986, Room Document 9.

10. DFG, Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmittein, verl. Chemie, Weinhim, Abschnitt XI (1982).

11. J. Sherma and G. Zweig, Anal, Chem. 57, 1R-15R (1985).

12. R. J. Hemingway et al., Pure & Appl. Chem. 56, 1131-1152 (1984).

13. J. R. Gant and P. A. Perronne, Intern. Clinical Prod. Rev. 5, No. 3, 40-47 (1986).

14. D. McBlane and J. R. Benson, Eine Reversed-phase-Säule mit einem C18-derivatisierten polymerd, ict Handelsgesellschaft, Antoniterstr. 27, D-6230 Frankfurt 80.

15. R. Gill and B. Law, J. Chromatogr. 354, 185-202 (1986).

16. H. M. McNair, M. W. Ogden and J. L. Hensley, Intern. Lab. 16, No. 1, 14-21 (1986).

17. O.L. Duffy, Intern. Lab. 16, No. 3, 78-87 (1086).

18. R. T. Wiedemer, S. L. McKinley and T. W. Rendi, Intern. Lab. 16, No. 4, 68-77 (1986).

19. W. Blab, private communication (1986).

20. C. M. White and R. K. Houck, J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun. 9, 3-17 (1986).

21. S. W. Weight and R. D. Smith, J. High Resolut. Chromatogr, Chromatogr, Commun. 2, 73-77 (1986).

22. P. Capriel, A. Haisch and sh. U. Khan. J. Agric. food Chem. 34, 70-73 (1986).

23. T. E. Beesley, J. Chromatogr, Sci. 24, 525-531 (1985).

24. G. BEcker, D. Eichler, H. -G. Nolting and H. -P. Thier, Die Dünnschichtchromatographie in der Rückstandsansalytik von Pflanzenschutzmitteln und Metaboliten, DFG-Forschungsblelricht, in press.

25. D. E. Jaenchen, in R. E. Kaiser (ed.), Proc. 3rd Intern. Symp. Instrumental High-Performance Thin-Llayer Chromatography, W¨rzburg, West Germany, April 17-19, 1985. p. 71-82, Inst. for chromatography, D-6702 and D¨rkheim, W. Germany (1985).

26. K. D. Burger and H. Tengler, in R. E. Kaiser (Ed.), Planer Chromatoxraphy, vol. I. P. 193-203, dHuethig Verlag, Heidelberg, Basel. New York (1986).

27. K. D. Burger, private dcommunication (1986).

28. J. R. Strimitis and G. L. Hawk (Ed.), Advances in laboratory Automation Robotics 1985, Zymark Corporation, Hopkinton, MA, USA.

29. C. H. Lochmüller, K. R. Lung and M. R. Cushman, J. Chromatogr. Sci. 23, 429-436 (1985).

30. K. W. C. Burton, W. O. George and B. C. Thomas, Analyt. Proc. 22, 164-168 (1985).

DDFG = Ceudtche Forschungallgemeinschaft, Postfach 20 50 04, D-5300 Bonn 2.

GIFAP = Groupment International des associations Vationles de Fabricants de produits Agrochimiques, Avenue Hamoir 12, B-1180 Brussels.

الفصل الثالث والعشـــرون

الموقف الراهن لفن تحليل المخلفات المتعددة :

- مقدمــــــة .
- طرق الاستخلاص .
- الاستخلاص بالاسيتونيتريل .
- الاستخلاص بالأسيتون .
- طرق استخلاص اخرى .
- طرق التنظيف .
- طرق التحليل والتأكيد .

* طرق الكشف .
* الاوساط الثابتة السائلة .
* الطرق التأكيدية



الموقف الراهن لفن تحليل المخلفات المتعددة

Present state of the Art of Multi-residue Analysis

مقدمـــــة :

طرق تحليل المخلفات المتعددة تقدم الوسائل الاساسية للقائم بالتحليل لتقدير المخلفات فى العينات ذات التاريخ المعلوم وبدرجة اكثر تلك المجهولة الخفية . فى التقديرات الروتينية ينحصر الهدف فى الغربلة السريعة والتعريف والتحديد الكمى لاكبر عدد من المخلفات . وهذا يتطلب التحسين والتطوير المستمر فى طرق الاستخلاص والتنظيف والكشف مما يؤدى الى تحسين الطرق السابقة وتطوير طرق جديدة . فى هذا المجال نتناول المقارنات بين الطرق التى يشار اليها بالاختصارات :

Official Methods of Analysis, 13 th Ed, AOAC, Washington, DC, = AOAC (1980).

Pesticide Analytical manual, Vol. I, Food and Drug Administration = FDA Washington, DC, (1979).

Canadian manual on Analytical methods for pesticide Residues in Food, Information Canada, Ottawa, Canada, Analytical methods

Sissons * Abbot * Rueckstansanalytik *

Specht * Ambrus

طرق الاستخلاص Extraction procedures :

لقد درس باستفاضة كبيرة كفاءة عملية الإستخلاص مع نظم مختلفة من المذيبات العضوية والهدف المنشود يتمثل فى ايجاد نظم مذيبات قادرة على انتزاع مخلفات المبيدات التابعة للمجاميع المختلفة فى نفس المستخلص . يعتبر الحصول على الظروف الملائمة للفصل الجزئى للعديد من الكيميائيات ذات المدى الواسع من القطبية من اهم التحديات التى تجابه طرق الاستخلاص الناجحة والتى تمكن من الانتقال الكمى من عينة المستخلص المائى الى الوسط العضوى . لتحقيق ذلك تستخدم طرق تعتمد على تجانس العينة فى مذيب واحد او مخلوط من مذيبين او متجانسين منفصلين فى مذيبات مختلفة أحدهما للمركبات القطبية والاخر للغير قطبية . بعد الإستخلاص يجرى فصل جزئى بمذيب واحد او بمذيبين منفصلين كما حدث فى خطوة التجانس . ويعتبر مذيبى الاسيتونيتريل والاسيتون من اكثر المذيبات شيوعا فى الاستخلاص المتجانس . لقد بنى استخدام هذين المذيبين على اساس ان المذيب المناسب لإستخلاص المبيد هو الذى عنده القدرة على الامتزاج بالماء والمذيبات غير القطبية . ومن ثم لا يكون المذيب المستخلص الفعلى مجرد مذيب قابل للمزج فقط ولكنه عبارة عن محلول مائى من العينة والمذيب المستخدم .

الاستخلاص بالاسيتونيتريل Acetonitrile extraction :

يناسب الإستخلاص بالاسيتونيتريل مدى واسع من انواع مبيدات الآفات وغيرها من المركبات . تحتوى طرق AOAC و FDA على نتائج التجارب الشاملة لمعدلات الاسترجاع لأكثر من ٢٠٠ مبيد مختلفة بالاضافة الى الكيميائيات الصناعية . فى هذه الطرق فقد العديد من المركبات الذائبة فى الماء (القطبية) بصورة جزئية او كلية خلال استخلاص المبيدات من الاسيتونيتريل المائى مع ايثر البترول وكذلك خلال الفصل الكروماتوجرافى على الفلوريسيل . ولتقليل هذا الفقد استخدم Storherr ومعاونوه المثييلين كلوريد بدلا من ايثر البترول فى خطوة الفصل الجزئى . وبذلك نحصل على استرجاع عالى للمبيدات الفوسفورية القطبية . عند دمج طريقة ستورهر مع طريقة الـ FDA زاد عدد المركبات التى كشف عنها ويؤخذ على هذه الطريقة طول الوقت وزيادة التكاليف .

بدلا من المثييلين كلوريد استخدم Abbott ومعاونوه مذيب الكلوروفورم فى الفصل الجزئى بالاسيتونيتريل . لتحسين استخلاص المبيدات الفوسفورية العضوية عالية القطبية وكذلك نواتج تمثيل المبيدات اقترحت عدة تحويرات بسيطة على هذه الطريقة . أدى تشبيع مستخلص الاسيتونيتريل بمحلول ١٠ ٪ كبريتات الصوديوم واجراء الفصل الجزئى بعد ذلك بمذيب الكلوروفورم إلى تحقيق كفاءة عالية .

الإستخلاص بالاسيتون Acetone extraction :

استخدم الاسيتون فى العديد من الطرق نظرا لبعض المميزات التى يتمتع بها فهو غير سام وتسهل تنقيته وتطايره وقلة تكاليفه بالمقارنة بالاسيتونيتريل وبعض المذيبات الاخرى . بالاضافة لذلك يمكن استخدام الاسيتون بخلاف الاسيتونيتريل مع العينات ذات المحتوى العالى من السكر نظرا لعدم تكوينه لنظام مزدوج الوسط مع الماء فى وجود السكر .

لقد ثبت صلاحية الاسيتون من الناحية العملية فى استخلاص مدى واسع من انواع مختلفة من المركبات والعينات ، الجدول رقم (٢) يشتمل على طرق لاكثر من ١٠٠ مبيد . من الاساسيات ان مستخلصات الاسيتون لأية عينة تحتوى على أى من المبيدات المستخدمة فيما عدا المحتوية على شحنة ايونية دائمة . فى العديد من الطرق يجرى تشبيع مستخلص الاسيتون بمحاليل كلوريد او كبريتات الصوديوم بواسطة الفصل الجزئى فى الميثيلين كلوريد . وهذا حقق فصل جزئى مناسب لمختلف المركبات علاوة على سرعة الفصل . كذلك اعلن عن استخدام الكلوروفورم وخلات الايثايل فى خطوة الفصل الجزئى بدلا من الميثيلين كلوريد .

طرق استخلاص اخرى Other extraction procedures :

عادة ما تستخدم المذيبات مثل الايثايل اسيتات والبنزين او الميثانول والميثيلين كلوريد فى استخلاص المركبات الفو سفورية العضوية . طريقة Watts المحورة والتى فيها تستخلص العينة

بخلات الايثايل ثم ينظف المستخلص مباشرة فى عمود يحتوى على الشاركول/اكسيد المغنسيوم/ السيليت اعطت معدلات استرجاع جيدة للمركبات الفوسفورية العضوية عالية القطبية . لقد وصف Laws and Webley طريقة تم فيها الاستخلاص بواسطة الميثيلين كلوريد وتبع ذلك خطوتين للفصل الجزئى الاولى مع ايثر البترول للمركبات التى تذوب فى البترول والثانية مع مخلوط الميثانول والماء للمبيدات الحشرية الفوسفورية التى تذوب فى الماء . لقد استخدم Estres ومعاونوه مخلوط من خلات الايثايل والميثيلين كلوريد فى الاستخلاص مبتوعا بخطوات من الفصل الجزئى للمركبات الذائبة فى الماء وتلك الغير قطبية وقاما بتدوين معدلات الاسترجاع لاكثر من ٤٠ مركب تتبع المجموعات المختلفة من مبيدات الآفات .

النظم المحتوية على مخلوط من المذيبات التى تقبل وتلك التى لا تقبل المزج مع الماء لم تستخدم على نطاق واسع نظرا لمشاكل الاستحلاب والصعوبات التى تواجه فصل كميات معقولة للتحليل . لقد استخدم Sissons ومعاونوه مخلوط الاسيتون والهكسان لاستخلاص المبيدات الغير قطبية دون اية مشاكل تتعلق بالاستحلاب وكذلك الاستخلاص المائى المنفصل للمركبات التى تذوب فى الماء .

طرق التنظيف Clean-up procedures :

لا توجد طرق نموذجية قادرة على تنظيف كل المستخلصات النباتية المرافقة من المبيدات ، ومن ثم فانه لتحقيق كلا التنظيف المناسب لمستخلصات المحاصيل المختلفة وفى نفس الوقت الحصول على نسب استرجاع عالية لمدى واسع من مبيدات الآفات تستخدم طرق تنظيف متوازية وهذا يتطلب وقت طويل والمدى الكبير من مراحل الفصل والازاحة تساعد فى التعريف . من اكثر مواد الادمصاص استعمالا فى اعمدة التنظيف الفلوريسيل والالومينا والشركول والسليكاچيل وغيرها من المخاليط المختلفة . كذلك استخدم كروماتوجرافى الجيل المنفذ بنجاح مع المواد الدهنية وغير الدهنية . والفلوريسيل يمكن من الحصول على مدى واسع من المركبات فى العينات المختلفة ولكن يحدث فقد للمواد الأكثر قطبية . بتغيير سائل الازاحة يمكن استرجاع المبيدات الاكثر قطبية .

لتحليل المركبات الفوسفورية العضوية عالية القطبية يستخدم الكربون المنشط فى عملية التنظيف . ولقد ثبت صلاحية وكفاءة مخلوط الادمصاص المكون من الكربون المنشط / اكسيد الماغنسيوم / الارض الدياتومية فى تنظيف العينات ذات المحتوى العالى من الكلوروميثيل ولكنها غير ملائمة للتخلص من الشمع النباتى . من المعروف ان استخدام الالومينا تستهلك الكثير من الوقت وقد امكن التغلب على هذا الوضع باستعمال كميات صغيرة من مواد الادمصاص والازاحة بحجوم صغيرة من المذيبات والضغط بالنتروجين . عندما استخدمت الالومينا القاعدية ظهر حدوث تحلل مائى لبعض المبيدات الحشرية الفوسفورية العضوية نتيجة للقلوية بينما لم يحدث ذلك مع الالومينا المتعادلة . لقد ثبت امكانية ازالة المبيدات من المستخلصات بواسطة الالومينا فقط او متبوعة بالسليكا جيل . تحقق تنظيف مقبول مع العديد من المستخلصات النباتية من خلال الفصل الجزئى بالمذيبات

مثل الميثيلين كلوريد والكلوروفورم وخلات الايثايل . وهذه المستخلصات نظفت بدرجة كافية لتحليل المركبات الفوسفورية العضوية المحتوية على النتروجين والكبريت بالكاشفات المتخصصة فى الكروماتوجرافى الغازى . من هنا يمكن القول ان صلاحية طريقة الكروماتوجرافى الغازى GC تعتمد على الاستخلاص والكروماتوجرافى . فى المقابل فانه بسبب الطبيعة الغير متخصصة نسبيا للكاشفات صائدات الالكترونات EC فانه يجب اجراء تنظيف اضافى لتحليل المركبات الكلورينية العضوية . وبناء على خبرة مؤلفى هذا الجزء Arto kiviranta بفنلندا مع اكثر من ٢٠٠٠٠ عينة من مختلف المحاصيل بطريقة Luke ثبت ان معظم المستخلصات النباتية (باستثناء بعض الجذور والخضروات عالية الكلوروفيل) ليست بحاجة لعمليات التنظيف . فالمستخلصات النباتية لا تؤثر على كفاءة كاشفات EC المتطورة الحديثة بدرجة كبيرة . وعلى سبيل المثال فان استخدام الكاشف المحلل للالكترونات ذات التخصص الهالوجينى Halogen specific Hall electrolytic conductivity detector يقلل من الحاجة للتنظيف عند تحليل عينات الكيميائيات المحتوية على الهالوجين .

طرق التحليل والتأكيد Analysis and confirmation procedures

* طرق الكشف Mode of detections

لابد من التأكيد عند الفصل والكشف والتقدير الكمى لمبيدات الآفات على ضرورة استخدام الكروماتوجرافى الغازى/ السائل المزود بالانواع المختلفة من الكاشفات مثل ECD و FPD و AFID و NPD وكذلك HECD (جدولى ١ و ٢) . ولقد ادى تطوير الكاشفات فى السنوات الاخيرة الى الحصول على انواع اكثر تخصصا وحساسية لتحليل الكيميائيات المحتوية على الفوسفور والنتروجين والكبريت . ومثال ذلك الكشف عن النواتج الايونية الضوئية . من اهم مميزات الكروماتوجرافى رقيق الطبقة (TLC) سرعة الإجراء وقلة التكلفة ومن العيوب قلة الحساسية والكفاءة المحدودة للتقدير الكمى . ومن ثم يستخدم الـ TLC فى البداية لاغراض الغربلة والتأكيد . وتتضمن طرق الكشف عن المركبات الكلورينية العضوية التشعيع بنترات الفضة والاشعة فوق البنفسجية (UV) بينما استخدم التثبيط الانزيمى وغيره من الطرق للمركبات الفوسفورية العضوية . ولقد اختبر Ambrus ومعاونوه ١٨٨ مبيدا (الفوسفورية ، الكاربامات ، اليوريا ، الترايزين ، المبيدات الفطرية ، المركبات المحتوية على الهالوجين) بخمسة طرق كشفية ونجح فى تقدير الكميات الدنيا بكل طريقة . ومن اكثر الاوساط الصلبة (الثابتة) الشائعة للـ TLC هى السليكا جيل واكاسيد الالومنيوم .

لقد ازداد استخدام الكروماتوجرافى السائل ذو الضغط المرتفع (HPLC) لتحليل المركبات الغير ثابتة والغير متطايرة وذات القطبية العالية . لقد تحقق ذلك نتيجة للتحسن الاخير الذى طرأ على حساسية الكاشفات وطرق التحولات الكيميائية بعد المرور من عمود الكروماتوجرافى .

* الاوساط الثابتة السائلة **Stationary liquid phases** :

فى الكروماتوجرافى الغازى يوجد العديد من الاوساط السائلة الثابتة ولكن معظم فصلات مخاليط المبيد يمكن تقديرها بثلاثة او اربعة انواع من القطبيات المختلفة . من اكثر الاوساط الشائعة الغير قطبية DC- 200 و SE 30 ومتوسطة القطبية QF-1 والقطبية DEGS وتختلف سلاسل الـ OV من الغير قطبى (OV - 1) الى القطبى (OV - 225) أو المخاليط مثل DC-200/QF-1 كما هو واضح فى جدول (٣) فان إستخدام عملية متعادلة الحرارة isothermal فان تحليل واحد يتطلب فترة طويلة نظرا لطول فترة الفصل retention time الخاصة بقمة المنحنى الاخير كما ان الاستجابة ستكون منخفضة . ولتقليل هذه الظاهرة تستخدم درجات حرارة عالية فى الاعمدة او يعمل برمجة للحرارة او يقصر طول العمود المستخدم . ولقد استعمل Ambrus ومعاونوه اعمدة بطول ٤٥ – ٩٠ سم لعمليات الغربلة واشاروا الى ان قلة قوة فصل الاعمدة القصيرة تؤدى الى خلق قليل من العيوب بدرجة تفوق المميزات . ومن ثم كان وقت تكرار عملية التحليل اقصر وكذلك كانت اقل الكميات الممكن الكشف عنها بنفس الكاشف تقل بمقدار ٥ – ١٠ مرات عن الحالة العادية كما ان استخدام حرارة عمود واطية تمكن من تحليل المركبات الحركية مثل الكاربامات واليوريا .

* الطرق التأكيدية **Confiramtory procedures** :

عادة تجرى تأكيد كمى ونوعى لنتائج التحليل الاولية باستخدام واحد على الاقل من الاعمدة البديلة ذات القطبية المختلفة . بالمقارنة بالاعمدة المملوءة تعتبر الاعمدة الشعرية ممتازة فى هذا الخصوص نظرا للقوة العالية للفصل . لقد وصف Ambrus و معاونوه نظام يتم فيه تأكيد عمود واحد للكروماتوجرافى الغازى GC بالتكامل بين الـ TLC ومكونات ازاحة السليكا جيل . بالاضافة للعمود البديل توجد طرق تأكيدية متعددة تعتمد على الـ TLC والتحول الكيميائى وقيم التوزيع الجزئى للإستخلاص (P. values) .

جدول (٣) : الوقت الاقصى لتحليل مخلوط قياسى على بعض الأعمدة .

مادة العمود	انسياب الغاز ملليلتر/دقيقة	حرارة العمود (°م)	ميعاد ظهور اخر منحنى (دقيقة)
١٠ ٪ DC-200 (١,٨٢ متر)	١٢٠	٢٠٠	٥٥
١٠ ٪ DC-200 / ١٥ ٪ PF1 (١,٨٢ متر)	١٢٠	٢٠٠	٩٨
٣ ٪ OV-225 (١,٨٢ متر)	٦٠	٢٠٠	٥٠

جدول (١) : طرق تعتمد على مستخلصات الاسيتونتريل .

Ref.	Sample material and extraction/Partition	Clena-up column/eluate	Limits of detection (ppm)	Compounds	Remarks
FDA (2a) AOAC d(1a)	non fatty AOAC official status : 42 crops e : acetonitrile or H_2O/acetonitrile p : pet. ether	c : Florisil e : pet./Et ethers (6, 15, 50%)	0.01 heptachlr. epox. 0.02 parathion others	recovery : 276 organochlorine, organophosphates, fungicides, herbicides, industr. chemicals	det: GLC (ECD, TID, FPD, NPD), TLC saturation : satd. NaCl-solution, large RRT-data for DC-200, DC-200/QF-1 and DEGS columns, large elution patterns for Florisil col. time demand 3-3 hr/sample
FDA (2b) AOAC (1a)	fatty foods official status : 4	as above	0.02 heptachlr. epox. 0.13 parathion	212 as above	
FDA (2c) AOAC (1b)	non fatty e : acetonitrile or H_2O/acetonitrile p : pet. ether	c : Florisil e : CH_2Cl_2/acetoni-trile/hexane	0.01/0.02 0.02/0.13	162, organochlorine organophosphates, fungicides, herbicides, industr. chemicals	imporved clean-up for fats and oils, improved recovery for more polar comp. as (1a)
FDA (2d) AOAC (1c) Storrherr (12)	non fatty c : acetonitrile or H_2O/acetonitrile p : CH_2Cl_2	organophosphates : c : charcoal/MgO/ celite e : acetonitrile/ benzene organochlorine : ;c : Florisil e : pet./Et ether 2.5%	0.006-0.4 organophophates, 0.002 parathion	66 organophosphates, 7 organochlorine	det: GLC (TID, FPD) recovery for non-polar, polar organophos-phates and their metabolites, used together method (1a), delayed Florisil clean-up for EC-detecst-able compounds

Ref.	Sample material and Clena-up extraction/Partition	column/eluate	Limits of detection (ppm)	Compounds	Remarks
Candian Manual (3)	non fatty e : acetonitrile or H2O/acetonitrile p : H2O/hexane or hexane	1) c : Florisil e : 1 5-30% CH2CI2/ hexane, 2 5-30% EtOAc/hexane 2) c : carbon-cellulose e : 1 1.5% acetoni- trile/hexane 2 CHCI3 3 henzene		c. 55 organochlorine, organophosphates, carbamates, fungicides, 40, as above	det : GLC (AFID, FPD, ECD), TLC acetonitrile distilled away before hexane partition or diluted with H2O and saturated with Na2So4 solution, Ch2CI2 added to increase partition of more polar compounds, elution patt. for florisil and carbon-cellulose columns; inproved Florisil elution for more polar comp. as (1a), RRT-data for DC-200, OV-210, DEGS, SE-30/ QF-1 columns
Ahhot (5) Panel (13)	non fatty e : acetonitrile p : chloroform fatty foods e : hexane and acetonitrile p : Ch2CI2	no column clean-up no column clean-up	0.01 parthion	c. 60 organophosphates and their polar metabolites	det : GLC (TID), total org. phosphorus, for non fatty, repeated acetonitr. extr. and saturation with 10% Na2SO4 solut., recoveries the most polar organophosph. time demand : c. 1 hr/sample

جدول (٢) : طرق تعتمد على مستخلصات الاسيتون .

Ref.	Sample material and extraction/Partition	Clena-up column/eluate	Limits of detection (ppm)	Compounds	Remarks
FDA (d2f)	non fatty	no column clean-kup for organo-	0.005	113 organochlorine,	deter : GLC)FPD, HECD,NPD,ECD)
Luke (14, 15)	15 crops	phosphorus, -nitrogen and		organophosphates	saturation : NaCl
	e : acetone	- sulphur compounds,		and metabolites,	RRT=data for DEGS=column,
	p : pet. ether/CH2C12	delayed Florisil clean-up for		.carbamates, fungi-	time demand : 1 1/4 hr/sample
		EC-detectable compounds		cides, triazines	
Rueckstand. (41)	non fatty	no column clean-up for organo-	0.002	28 organochlorine,	det : GLC (TID, ECD)
	22 crops	phosphates,		organophosphates	sat : Na2SO4 solution
	e : acetone	for organochlorine compounds :			RRT-data for DC-200 column
	p : chloroform or	c : alumina			
	CH2CI2	e : pet. ehter			
Reuckstand (4b)	non fatty	c : active carbon/siliga get	0.005	75 organochlorine,	det : GLC (AFID, FPC,ECD)
Becker (16)	25 crops	e : CH2CI2/benzene/acetone		prgamp[jps[jates,	sat : satd. NaC` solution,
	e : acetonc			fungicides,	RRT-data for SE-30, QF-1 col.
	p : H2O/CH2CI2			triazines	time demand : 2 hr/sample
Rueckstand (4c)	20 crops	sweep co-distillajtion	0.002-0.005	62 organochlorine	det : GLC (TID, ECD)
	e : acetone		orglanochlorine	organophosphates,	sat : satd. NaC` solution
	p : CH2CI2		0.05-0.1		RRT-data for SE-30, QF-1 col.
			organophosphates		time demand : 1 1/2 hr/sample

Ref.	Sample material and extraction/Partition	Clena-up column/eluate	Limits of detection (ppm)	Compounds	Remarks
Ambrus (8-10)	6 main groups of foodstuffs e : acetone p : Ch2CI2	1)c : active carbon/MgO/diatom. e : CH2CI2 2) c : alumina N and B, e : l hexane 2 hezane/Et ether 3)c : siliga gel, e : l hexane 2 hex/benz, 3 benzene 4 sbenz/EtOAc 5° EtOAc	0.002 orlganochlorine 0.05 organophosphates 0.01 carbamatesw 0.02 triazines	143 organochlorine, organophosphates, carbamates, fungicides, ureaherbicides	det : GLC (NP-, P-TID, FPD, ECD) sat : Na2So4 sol. TLC repeated acetone extr. for phtalimide compounds, elution patt. for clean-up c. RRT-data for OV-22, OV-101, SE-30, SP2401/2250, NPCS-columns
Specht (11)	non fatty and fatty foods e : H2O/acetone p : CH2CI2	1) polystyrene gel, e : EtOAc/ cyclohexane for polar and non polar compounds, extral: ;clean-up for organochlorine : 2) c : siliga gel, e : 1 toluene/hex, 2° tol, 3° acetone/tol, 4 acetone		90 organochlorine, organophosphates and polar metabolites, other insecticides fungicides	det : GLC (FPD, NPD, ECD, MS) sat : NaCl elution patterns for siliga gel column
Sissons (6.7)	non fatty 21 corps e : acetone/hexane or H2O p : hexane or chloro- form	for polar organophosphorus commpounds : c : alumina N e : chloroform for hexane soluble compounds : C : alumina e : 1° hexane, 2° acetone/hexane 3° subsequent acetone/hexane	organochlorine 0.002-0.01 organophosphates 0.002-0.02	31 organochlorime, organophosphates and polar metabolites	det : GLC (TID, ECD, colorim. total phosphorus, for non polar : acetone/hexane extraction, for polar compounds : H2O-extr. RRT-data for OV-17 column, elution pattern for alumina column.

الفصل الرابع والعشرون

التقدير الامثل ومقاييس التنقية فى طرق التحليل المتعدد والحساسية لمتبقيات المبيدات :

- المقدمة .
- اختيار ظروف الكروماتوجرافى الغازى .
- خمول اعمدة الكرماتوجرافى الغازى .
- حجم العمود .
- تحميل الاعمدة بالمستخلصات النباتية .
- مقدرة التحميل وكروماتوجرافى الطبقة الرقيقة .
- الاستنتاج .



التقدير الامثل ومقاييس التنقية في طرق التحليل المتعدد والحساسية لمتبقيات المبيدات

Optimization of determination and clean-up parameters for sensitive multi-residue analysis pesticides

لتسهيل الاستخدام الصحيح لطرق التحليل المتعدد .. فقد تم دراسة سلوك عدة مبيدات باستخدام طرق التحليل الكرماتوجرافى الغازى ، كما تم تحديد حساسية هذه المركبات لظروف الكرماتوجرافى الغازى ، كما تم اختبار المقدرة على التحميل لكل من اعمدة الكرماتوجرافى الغازى والواح كروماتوجرافى الطبقة الرقيقة وذلك باستخدام مستخلصات التفاح والجزر والسبانخ وذلك بعد اجراء عمليات التنقية لها . كما تم توضيح ما تم استنتاجه فيما يتعلق باستخدام كل من طرق التنقية والكشف .

المقدمـــــة :

لقد اتضح ان هناك مقدرة اختيارية عالية للكشاف ذو اللهب المضيء Flame photometric (FPD) ، ومن النوع الحرارى الايونى Thermionic (TID) ، والنوع ذو التوصيل الإلكتروليتى Electrolytic conductivity (HCD) بالاضافة الى الكشف لبعض طرق الكروماتوجرافى ذو الطبقة الرقيقة TLC وذلك فى تقدير بعض متبقيات المبيدات الموجودة فى المستخلصات بدون الحاجة الى اجراء عمليات تنقية . حيث ان الحقن المباشر للمستخلصات المركزة ينتج عنها السرعة فى الوقت وبساطة التحليل ، فانها طريقة متبعة فى عديد من المعامل . الا ان هذا التطبيق المباشر للمستخلصات الخام من الممكن ان ينشأ عنها تأثير معاكس ومضاد لجودة الفصل الكروماتوجرافى . بسبب تغيير تفاعل بعض المركبات الحساسة مع العمود الكروماتوجرافى وبالتالى تغيير وقت الحبس النسبى . وهكذا فان عوامل الاستجابة النسبية Relative Response Factors (RRF) وأقل كميات يمكن كشفها Minimum Detectable quantities (MDG) من الممكن ان تختلف من وقت الى آخر وذلك اعتمادا على درجة التحميل وظروف اعمدة الكرماتوجرافى .

لكى يتم الوصول الى افضل استخدام لطرق التحليل المتعدد Multi-Residue Procedures (MRP) فهناك عدة قياسات هامة .. منها ان ظروف الكشف يجب اختبارها بصورة مستمرة للتأكد من ان الحساسية للكشف كافية للتعرف على المركبات المتغيرة . لذلك فانه تم دراسة سلوك عديد من المبيدات تم اختيارها من مجاميع كيميائية مختلفة وذلك باستخدام اعمدة معبأة تم تحميلها بمستخلصات نباتية وذلك بهدف :

١ - تعريف المركبات المتغيرة ، والتى تتطلب اهتمام خاص خصوصا عندما تكون ظروف التحليل المتعدد تستخدم للعينات الغير معروفة المنشأ .

٢ - تقدير مقدرة التحميل لأعمدة الكروماتوجرافى الغازى القصيرة وذات السعة المنخفضة .

في حالة عينات التفاح والجزر والسبانخ فان الاستخلاص قد يتم بالاسيتون وتمت عملية التوزيع باستخدام الميثيلين كلوريد مع اجراء التنقية على خليط منشط من (١ جم كربون منشط + ٢ جم مغنسيوم + ٤ جم طحالب ارضية) . ايضا تمت دراسة تأثير المستخلصات السابقة على طريقة التحليل الكرماتوجرافى الطبقة الرقيقة وذلك باستخدام هذه المستخلصات وتطبيقها على الواح جاهزة .

اختيار ظروف الكروماتوجرافى الغازى Selection of GC conditions

* خمول اعمدة الكروماتوجرافى الغازى Inertness of GC columns

ان الجزيئات المتغيرة كيميائيا من الممكن ان تتدهور فى جزء الحقن وايضا فى عمود الكرماتوجرافى وفى كلا الحالتين فات التأثيرات التحضيرية من كل من جزء الحقن والعمود ودرجة الحرارة تتحكم فى معدل هذا التدهور . يتم ذلك باتباع الغسيل بحامض واستخدام اعمدة زجاجية من النوع Pyrex المعامل بمادة Silane مع إستخدام مادة تعبئة خاملة وصوف زجاجى معاملة بالسيلله وبالتالى فان تكسير معظم المركبات المتغيرة من الممكن ازالتها او حفظها عند مستوى ثابت ومنخفض . بالتالى فان اعادة الحقن للمستخلصات النباتية المركزة او حقن كميات كبيرة من المركبات المتغيرة كيميائيا بحيث تجرى بعدها اجراء عملية سيللة للعمود فان ذلك يعمل على تحسين صفة الخمولية للنظام الكرماتوجرافى وعلى العكس فان تلوث جزء الحقن من الممكن ان يعمل على احداث تدهور جزئى او كامل لهذه المركبات المتغيرة .

عند اجراء مقارنة بين الاستجابات للمبيدات المختارة وهى : P - P' - DDT , Propicana-zole , Monocrotophos , Carbaryl وذلك تحت ظروف مختلفة للأعمدة . فقد وجد انه من الممكن الكشف عن هذه المبيدات حتى مستويات 10 ng و 10 pg وذلك مع انظمة الكشف من النوع FPD , NPTID , ECd على التوالى .

الظروف المستخدمة للفصل الكروماتوجرافى والتى اظهرت هذه الاستجابة كانت مناسبة لتقدير متبقيات اخرى والتى تم استرجاعها بواسطة طرق MRPS الاكثر شيوعا فى الاستخدام .

فيما بين المبيدات الفوسفورية العضوية التى تم تحليلها فان معظم المركبات الغير ثابتة كانت مركبات قطبية وخاصة انها تحتوى على سلسلة جانبية تشمل :

أ - رابطة زوجية Monocrotophos ب - شق اميد Phospholan

جـ - شق كرباماتى Dimethoate د - مجموعة استر Malathion

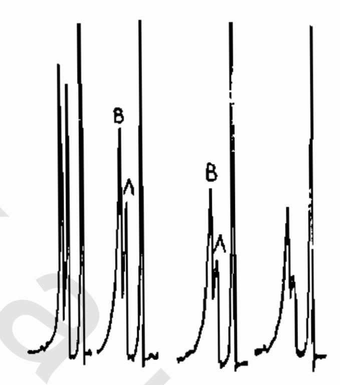
هـ - او اى تركيب يسمح بتكوين رابطة أيدروچينية

ذلك بالاضافة الى الاهتمام الخاص عند اجراء تحليل لمركبات الكاربامات مثل -Carbofu

ran , Carbaryl وايضا مجموعة اليوراسيل Terbacil ومركبات اخرى تشمل الأندرين وال د د ت Thiobendozol dicofol .

* حجم العمود Column size :

عمود قصير (٥٠ – ٩٠سم) وضيق قطر داخلى (١,٧٥ – ٢ م) معبأ بمواد مفيدة جدا لاجراء عملية الغربلة والتأكيد من وجود متبقيات المبيدات وذلك بالمقارنة مع الاعمدة التقليدية ذات طول –١٨ سم وقطر داخلى ٣ م ، وقد تبين ان الأعمدة القصيرة ينتج عنها تحليل اسرع بمعدل ٢ الى ٥ مرات تعطى اقل قدرات للكشف MDQS اكثر بمقدار ٥ إلى ١٠ مرات كما انها تحتاج الى درجة حرارة اقل .



شكل (١) : كروماتوجرام المونوكروتوفوس (A) والباراثيون (B) بعد تحميل العمود من اليسار لليمين صفر ، ٢٠٠ ، ٣٠٠ مللجم مستخلصات السبانخ

تحميل الاعمدة بالمستخلصات النباتية Loading columns with plant extracts :

فى الاعمدة القصيرة (٤٥ سم × ٣ر م) فقد تم تعبئتها بمادة OV-101 chromosorb WAW ٣ ٪ ذات حجم حبيبات 60-80 mesh ، قد تم معاملة هذه الاعمدة بمادة Carbow-ax 20 M وبعد ذلك تم تحميل هذه الاعمدة باعادة عملية الحقن للمستخلصات المركزة بما يعادل ٥٠ – ١٠٠ ملجم من التفاح والجزر والسبانخ وتم استخدام الكشاف من نوع اللهب المضئ (FPD) وكانت درجة الحرارة المستخدمة كالآتى (140°C/2 min program at 10 °C min, 220 °C/10 min.) . لم تلاحظ وجود تغيرات فى قيم عوامل الاستجابة النسبية Relative Response Factor (RRF) او فى قيم الحبس النسبى او فى مقدرة التحليل . وذلك عندما وصل اقصى تحميل الى 2000 mg . بينما عند تطبيق درجة حرارة ١٨٠°م فان كل من قيمة RRF لمبيد monocrotophos (A) أو لمركب parathion-methyl (B) كذلك فان مقدرة التحليل قد انخفضت بصورة مستمرة مع زيادة التحميل .. وذلك كما هو مبين شكل (١) .

لقد تبين حدوث تدهور وتلف لعمود الكروماتوجرافى بسبب اجراء التحميل عليه بحقن 200 mg مستخلص سبانخ وحقن 140 mg مستخلص تفاح ، 600 mg مستخلص جزر . بينما عند تحميل الاعمدة بالمستخلصات بعد تنقيتها على مخلوط الادمصاص فان اداء العمود لم يتغير واصبح جيدا عندما وصلت درجة التحميل الكلية الى 3000 mg .

تدل هذه النتائج على ان المقدرة على التحميل تعتمد على نوع المستخلص ودرجة حرارة العمود وتتأثر باقل الحدود بسعة العمود . لقد وجد ان المقدرة التحميلية للاعمدة من الممكن تقديرها سريعا وذلك بفحص قيم RRF وذلك بعد اعادة الحقن للمستخلصات التى تحتوى على مدى من ١٥٠ الى ٢٠٠ مللجم / عينة والتى تحتوى على زوج مناسب من المركبات المختبرة مثل Monocrotophos/parathion-methyl أو Carbaryl/prophan ويتم الاستمرار فى الحقن حتى تصل قيم RRF للمركبات الثابت / المتغير الى ٨٠٪ من القيمة الاصلية والتى تحدد بانها اقصى حمل اجمالى maximum total load (LM) .

من الممكن اجراء حقن مرة واحدة لعينة تمثل 0.03 LM على اساس ان يتم وضع صوف زجاجى معامل بالسيللة ويعاد تهيئة العمود على اقصى درجة حرارة مضاف اليها ٣٠°م لمدة ٨ ساعات بعد كل ٢٠ حقنة . عند تقدير اقصى تحميل متاح من المهم ايضا اختيار الكشاف ، ففى حالة استخدام الكشاف من النوع ECD لابد من اجراء تنقية لكل مستخلص وايضا عند استخدام الكشاف من النوع NPTID .

اما عند إستخدام الكشاف من النوع TID عادة يسمح بحقن مستخلصات نباتية بها ٢ – ١٠ مللجم ، بينما فى حالة إستخدام HCD , FPD فان مقدرة الاعمدة على التحميل تكون محددة . لكى نضمن افضل اداء لنظام الكروماتوجرافى الغازى يجب ان يكون تحميل العمود باقل قدر من العينة المراد تقديرها وذلك يكون فى حدود (ملجم/كجم) .

مقدرة التحميل وكروماتوجرافى الطبقة الرقيقة Loadability and TLC :

لقد تم اختبار مقدرة التحميل للسليكا جيل واكسيد الالومنيوم لالواح TLC وذلك باستخدام مستخلصات نباتية مختلفة وانظمة ازاحة مختلفة وكذلك مبيدات مختلفة فعندما تم استخدام مستخلصات مشتركة نتج عن ذلك حدوث انتشار وظهور بقع ذات ذيول وتأثرت طبيعة توزيع المبيدات على الالواح . مع ملاحظة البطء فى السرعة بالاضافة الى انخفاض مستويات الكشف لهذه المبيدات .

وهكذا فان مقدرة التحميل للطبقة تختلف باختلاف قوة المذيب المكون للطور المتحرك وحبس المبيدات وايضا تعتمد على طريقة الكشف . فى جدول (١) يتبين ان اقل تحميل ينتج عنه فصل وكشف وذلك عندما تم اتباع طرق الكشف التالية :

جدول (١) : التغير فى حدود التقدير (مللجم/كجم) لبعض المبيدات إعتمادا على ظروف الفصل على الألواح

Compound	Eluent	Rf	MDQ /ug	Carrot Purified extr. sample mg	LD	Carrot Crude extr. Sample mg	LD	Spinach Purified extr. Sample mg	LD	Spinach Crude extr. Sample	LD
Carbaryl	EtAc	0.58		500	0.2	100	1	1000	0.1	100	1
	PE=E=1=2	0.23	0.05	2000	0.05	250	0.4	1000	0.5	50	2
	CH2CI2	0.11		500	0.1	200	0.4	1000	0.05	200	0.1
Dioxacarb	EtAc	0.41		500	0.4	100	2	1000	0.1	100	2
	PE=E=1=2	0.06	0.01	2000	0.05	250	0.8	1000	0.1	50	4
	CH2CI2	0.		500	0.4	200	1	1000	0.2	200	1
Atrazine	EtAc	0.59		250	0.2	100	0.5	1000	0.1	100	1
	PE=E=1=2	0.27	0.05	500	0.2	200	0.5	2000	0.05	100	1
	CH2CI2	0		400	0.25	100	1	1000	0.1	250	0.4
Carbendazim	EtAc	0.22		500	0.2	500	0.2	2000	0.4	250	0.3
	PE=E=1=2	0.02	0.01	400	0.2	100	0.8	2000	0.2	250	0.2
	CH2CI2	0		500	0.2	50	1.6	1000	0.30	500	0.3

قد لوحظ ان حدود التقدير كانت فى مستويات منخفضة الى ان وصلت الى ٥ر إلى ١ مللجم / كجم والتى نادرا ما تم الكشف عنها . وعندما تم تطبيق المستخلصات النباتية مباشرة على الواح TLC وحتى اذا استخدمت طرق التقييم الحيوى (باستخدام الانزيمات او جراثيم الفطريات) للكشف عن المتبقيات ومن خلال التجارب فقد تبين ان طرق الكشف بالتقييم الحيوى قد تكون متخصصة لنوع معين من المبيدات ولكنها طرق غير حساسة فى حالة وجود كميات كبيرة من المستخلصات المشتركة . قد وجد ان اجراء عملية التنقية للمستخلصات الخام على خليط الادمصاص تعمل على خفض قيمة LD (حدود التقدير) ٣ أو ٥ اضعاف . واذا كانت حدود التقدير اقل من ١ر مللجم/كجم فان ذلك يتطلب استخدام طريقة تنقية فعالة .

الاستنتاج Conclusion :

ان الثبات الحرارى للمبيدات لظروف التحليل الكروماتوجرافى تختلف بدرجة كبيرة وتتأثر بنوع العينة المستخلصة . ولضمان ان حساسية الكشف للمبيدات المسترجعة بواسطة طريقة المتبقيات المتعددة (MRPS) قد تم الوصول اليها فان ظروف الكروماتوجرافى الغازى يجب ان يتم الابقاء

عليها ويتم فحصها بصورة دورية اثناء تحليل العينات بحيث يتم اختبار قياسات التقدير باستخدام مخاليط تحتوى على كل من مركبات ثابتة ومتغيرة .

وهكذا نجد ان لكل من نوع العينة المستخلصة وظروف عمل الكروماتوجرافى وطريقة الكشف كلها عوامل تؤثر على تحميل الاعمدة والواح TLC . من الممكن اجراء الحقن المباشر للمستخلصات المركزة اذا ما تم استخدام الكاشفات من النوع TID أو EPD أو HCD مع اجهزة الكروماتوجرافى الغازى . اما اذا تم الكشف باستخدام (TLC) كروماتوجرافى الطبقة الرقيقة للتحليل المتعدد فلا بد من اجراء تنقية للمستخلصات .

الفصل الخامس والعشرون

العوامل الرئيسية التى تؤثر على صلاحية وكفاءة طرق تحليل المخلفات المتعددة .

- مقدمـــــة .

- مصادر الاختلافات والسبل الموصى بها لتقليل تواجدها واثرها .

(أ) العمليات التى لا تعتمد على طريقة التحليل .

* تجهيز العينات للتحليل .

* تخزين العينة قبل التحليل .

* الشوائب التى تتداخل مع التحليل ومصدرها المذيبات والجواهر الكشافة وادوات المعمل .

* المحاليل القياسية .

- العمليات المرتبطة بالطريقة .

* الاستخلاص والفصل الجزئى بين سائلين .

* الترشيح والتجفيف والتبخير .

* عمود الكروماتوجرافى والالواح الرقيقة .

- الكروماتوجرافى الغازى السائل .

- المشاكل المتعلقة بملاءمة الطرق .

- خصائص العمليات الفردية لتحليل المخلفات .

- وصف الطريقة .

- الاستنتاج .



العوامل الرئيسية التي تؤثر علي صلاحية وكفاءة طرق تحليل المخلفات المتعددة

Main Factors Influencing Reproducibility of Multi-residue methods*

مقدمـــــة Introduction :

الغرض من استخدام طرق تقدير المخلفات المتعددة (MRM's) يتمثل فى الحصول على معلومات اكثر عن العينة خلال فترة قصيرة وبعدد من التحليلات اقل وكذلك تقليل تكلفة تحليل كل عينة . من الاهمية الاحاطة بظروف الاستخدام المناسب لهذه الطرق الا وهى توفير المعلومات الكافية لدى القائم بالتحليل عن طبيعة العينة وملائمة الطريقة المقترحة وكذلك نوعية المبيدات المحتمل تواجدها داخل او على عينة المحصول مجال التحليل . بالاضافة لذلك فان المعلومات والمعرفة الخاصة بالمعايير المميزة للعمليات المختلفة والظروف المثلى لكل عملية مطلوبة لتقليل او تفادى التأثيرات الجانبية الغير مرغوبة . يجب ان تختبر العمليات مع المركبات الاكثر حساسية للظروف المثلى . من الضرورى ضمان مصدر الاجهزة والمواد الداخلة فى عمليات التحليل ومن ثم يجب التأكد من نقاوة وملاءمة المواد التى تستخدم فى كل مجموعة batch . المركبات الجديدة تختبر بانتظام مع طرق تقدير المخلفات المتعددة MRM المستخدمة بهدف تقدير صلاحية الطريقة وامكانيات التداخلات والمواد المتداخلة . فى هذا المقام نتناول صلاحية وكفاءة طريقة التحليل من منطلق الاختلافات والتحويرات . الغرض يتمثل فى تعريف المصادر الرئيسية للاختلافات عند التطبيق والمرتبطة بالعمليات كل على حدة أو مجتمعة واقتراح الوسائل والمعايير الضرورية اللازمة للاستخدام الامثل لطرق التحليل . على سبيل المثال تعتبر طريقة اخذ العينات والنقل ذات اهمية قصوى فى تحديد اسباب الاختلافات فى نتائج التحليل .

مصادر الاختلافات والسبل الموصى بها لتقليل تواجدها واثرها .

(أ) العمليات التى لا تعتمد على طريقة التحليل

Processes independent of the methods

*** تجهيز العينات للتحليل Preparation of smaples for analysis :**

من المعروف ان المخلفات لا تتوزع بتجانس فى او على المحاصيل ومن ثم تختلف النتائج مع عامل الوقت ومن معمل لآخر اذا ما اتبعت وسائل او اقترابات مختلفة . من الضرورى اتباع طرق متجانسة ومتماثلة اذا ما اريد الحصول على نتائج مقارنة . وللتمشى مع او تحقيق القواعد الدولية بخصوص بيانات المخلفات ينصح بل يجب استخدام الطريقة الموصى بها من قبل لجنة الدستور فيما يتعلق بمخلفات المبيدات وفيها يوصف وبكل دقة اية اختلافات فى مجال التحليل . تجدر العناية الفائقة للتأكد من التجانس التام لجميع اجزاء عينة المعمل المعدة للتحليل وقبل ان تؤخذ عينة التحليل النهائى .

* تخزين العينة قبل التحليل Storage of sample before analysis :

تتحلل او تنهار مختلف مبيدات الآفات بصورة تدريجية حتى على درجة حرارة – ٢٠ °م وتتوقف درجة الانهيار على العينة نفسها ، وفى العادة يكون الانهيار سريعا فى العينات المفتتة والمهروسة نتيجة للنشاط الانزيمى العالى وملامسة السائل الخلوى المحتوى على درجات مختلفة من الحموضة بالمقارنة بالثمار الكلية . من اهم المعايير المتعلقة باختلاف محتوى المخلفات هو الوقت المطلوب لتجميد العينات ، لقد اثبتت الدراسات انه كلما كان معدل التبريد سريعا كلما كان الانهيار بسيطا . فى هذا الخصوص يعتبر التبريد فى الثلج الجاف او فى النتروجين السائل من احسن الطرق . من المحتمل تقليل الخطأ التقليدى والاختلاف فى النتائج عن طريق تحليل العينات الحقلية المعاملة الطازجة وعيناتها الممثلة بعد فترات مختلفة من التخزين .

* الشوائب التى تتداخل مع التحليل ومصدرها المذيبات والجواهر الكشافة وادوات المعمل

Interferring impurities from solvents, reagents and laboratory devices

تظهر الشوائب على صورة علامات او اشارات متداخلة على الكرماتوجرام خاصة فى حالة الكروماتوجرافى الغازى بكشاف صائد الالكترونات GC/ECD او مع الجوهر الكشاف نترات الفضة على الواح الكروماتوجرافى الرقيق TLC . بالاضافة الى التأثيرات المعلومة عن دور آثار او بقايا المعادن فى بعض المركبات ومن ثم نتوقع امكانية حدوث درجات معينة من الانهيار كنتيجة لوجود هذه الشوائب . من المؤكد انه عند استخدام طريقة تقدير المخلفات المتعددة MRM's لا يوجد مجال لاى تهاون ولو ضئيل فيما يتعلق بنقاوة المذيبات والجواهر الكشافة حيث ان العديد من المركبات قد تحلل باكثر من طريقة . المتطلبات الخاصة بنقاوة ونوع المواد المستخدمة فى الطريقة تعتمد على طريقة الكشف وثبات المركب مجال التحليل . من الناحية العملية يعنى ذلك ان عينة المقارنة الخاصة بالجواهر الكشافة Blank اذا وضع مع العينة لا يحدث ارتفاع فى قمم التداخل مع GC/ECD فى الفترات التى تحدث فيها ازاحة للمركبات الاولى والاخيرة محل التحليل .

* المحاليل القياسية Standard solutions :

نوعية المادة القياسية يمكن التأكد منها بالمقارنة بالمركب القياسى ذو النقاوة المضمونة والمؤكدة او من خلال برنامج معايرة فى المعمل . من اهم العوامل الرئيسية التى تؤثر على دقة المحاليل القياسية نوعية المذيب والتغير فى الحجم نتيجة للتبخير والثبات ودقة الادوات الزجاجية (الماصات والدوارق) المستخدمة فى تجهيز المحاليل . الانحراف المحتمل فى المحاليل القياسية يجب ان يكون فى حدود ± ١ ٪ فى التخفيف النهائى . الصفات الاساسية المحددة لاختيار المذيبات تتمثل فى نقطة الغليان العالية والقطبية المتوسطة والثبات والنقاوة . العوامل التى تؤثر على ثبات المحاليل القياسية تنحصر فى التعرض للأشعة فوق البنفسجية والرطوبة والحرارة ونقاوة ونوع المذيب . بعض المركبات مثل البينوميل والبيوتيلات والمبيديفام والفنميد يفام والفورات والثيوميتون تنهار بسرعة حتى فى

حدود تركيزات مللجم/سم٣ فى المحاليل المجهزة باحسن نوعية مذيب . بناء على ذلك يجب عمل محاليل قياسية طازجة بصورة منتظمة . تبخير المذيب يمكن الحد من حدوثه بقدر الامكان باستخدام محاليل عمل من ٨ - ١٠ سم ٣ فى دوارق محكمة الغلق للمعايرة . وهذا المحلول يجب التخلص منه يوميا او عندما ينقص حجمه لأكثر من ٢ر سم٣ .

العمليات المرتبطة بالطريقة Method dependent processes

*** الاستخلاص والفصل الجزئى بين سائلين**

Extraction and liquid/liquid partition

من الواضح ان نوع المذيب والخلاط المستخدم فى الإستخلاص بالمذيب يؤثران على كفاءة الاستخلاص . يمكن تقليل الإختلافات الناجمة عن مختلف الاجهزة والأدوات برج مخلوط العينة والمذيب لمدة ساعة بعد الطحن (الخلط) . فى هذه الحالة يجب اعتبار ثبات المبيدات للتحلل المائى . يجب عدم تغيير نوع وكمية المذيب دون التاكد من كفاءة الاستخلاص اذا كان الهدف الحصول على نتائج مقارنة . من الثابت ان الاسترجاع من العينات المقواة لا تعطى نفس درجة كفاءة الاستخلاص للعينات الحقلية . الاختلافات بعضها يرجع الى الفصل الغير مناسب للأوساط السائلة خاصة فى حالة المستحلبات التى قد تتكون . وليكن معلوما ان وقت الاستقرار فى الاوساط السائلة او فى المستخلصات المبللة يجب الا تزيد عن الوقت المطلوب للفصل الكامل .

*** الترشيح والتجفيف والتبخير Filtration, drying and evaporation :**

لتقليل درجة ادمصاص مخلفات المبيدات تستخدم مواد مساعدة للترشيح وكبريتات الصوديوم بكميات اقل ما يمكن بما يحقق الغرض فقط . يجب ان تغسل اوراق الترشيح او المواد الصلبة بالكمية المناسبة من المذيب . من الضرورى تجنب تبخير المذيبات لحد الجفاف عند استخدام طريقة تحليل المخلفات المتعددة MRM's . درجة حرارة حمام التسخين يجب الا تزيد الا بدرجات حرارة قليلة عن نقطة غليان المذيب على الضغط المستخدم . أية رواسب من المادة المتبقية يجب ان تغسل عدة مرات بالمذيب بداية من جدار الدورق . ان اضافة المذيبات عالية الغليان قد تقلل من فقد المخلفات خلال التبخير ولكن الكمية يجب ان تكون اقل من الحجم النهائى المطلوب كما ان القطبية المختلفة يجب الا تؤثر عكسيا على نظام السيولة فى عمود الكروماتوجرافى .

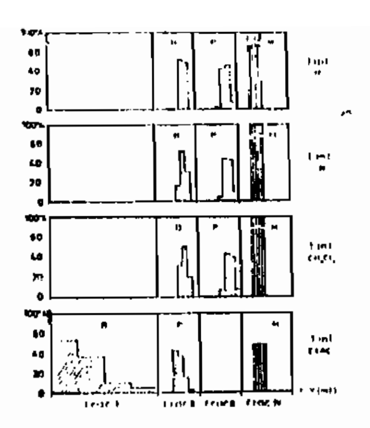
عمود الكروماتوجرافى والالواح الرقيقة

Column chromatography (CC) and TLC

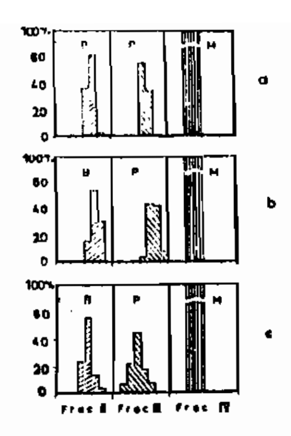
عمليات الادمصاص الكروماتوجرافى ونظام الازاحة تتأثران كليهما بالعديد من العوامل والمعايير التالية تبدو ذات اهمية فى تحديد كفاءة وصلاحية العمود والالواح CC و TLC : النوع والكمية والنوعية مثال ذلك حجم الجسيمات وتجانسها والنشاط والكفاءة الخطية لمادة الادمصاص وقوة المذيب . بالاضافة لذلك تمثل عوامل الحرارة ونوع المركب مجال التحليل وطبيعة

وكمية المستخلصات المرافقة والرطوبة النسبية للهواء والتغير فى نشاط مادة الادمصاص بمذيب الازاحة اهمية فى هذا الخصوص . الفصل بعمود الكروماتوجرافى يتأثر بوجه خاص بحجم وتكوين العمود وطريقة التعبئة خاصة وقت التعبئة والمذيب المستخدم وتجانس الحبيبات وطبيعة المذيب المستخدم لاذابة المواد المستخلصة ومعدل الازاحة والتداخل بين مادة الادمصاص والمبيدات . الازاحة الخاصة بكروماتوجرافى الالواح TLC تتأثر بنشاط اللوح بعد وضع المبيد خاصة اثر وقت الوضع والرطوبة النسبية واسلوب تشبيع كابينة الفصل واختلاف الضغط البخارى فى مكونات السائل المزاح وطريقة وضع او معاملة اللوح مثال ذلك حجم البقعة والمذيب وقيم انسياب او سريان المركبات RF . عادة ما يكون وقت وضع العينات على اللوح كافيا لحدوث التوازن بين مادة الادمصاص والرطوبة فى الجو ومن ثم يجب ضبط كفاءة اللوح بعد المعاملة "Spotting" . بعض هذه التأثيرات وضحت مع امثلة عملية . فى الشكل (١) يتضح نظام الازاحة للمركبات الفوسفورية العضوية على الاعمدة : (أ) ٥ جم Merk Kieselgel ٠٥ر - ٢ر ملليلتر ، (ب) سليكا Voelm ١ر - ٢ر ملليتر ، (جـ) Merk kieselgel (٢ر - ٥ر ملليتر) والتى فقد نشاطها باستخدام ٥ ٪ ماء ثم الازاحة مع ٤٠ ملليلتر هكسان (المكون ١) ثم ١٦ ملليلتر هكسان / بنزين ٤ : ٦ (المكون ٢) ، ١٦ ملليلتر بنزين (المكون ٣) ثم ٢٠ ملليلتر بنزيل / ايثايل اسيتات ١ : ١ (المكون ٤) . لقد كانت معدلات الازاحة ٢ر ، ٢ر١ ، ٣ سم٣/دقيقة على الأعمدة أ ، ب ، جـ على التوالى . ان الاختيار الصحيح للمذيب فى غاية الاهمية . المذيب القطبى الذى يستخدم لنقل العينة الى العمود قد يسبب فقد نشاط مادة الادمصاص نتيجة لاحتلاله للمواقع النشطة ، وهذا الوضع موضح فى الشكل (٢) حيث استخدمت مذيبات الهكسان (H) والبنزين (Be) والميثيلين كلوريد (Ch2 Cl2) والايثايل اسيتات (Et Ac) . وكان حجم المذيب المضاف كافيا لتكوين طبقة جزيئات واحدة على ٧٦ ٪ من سطح مادة الادمصاص . لقد غير الايثايل اسيتات من نظام إزاحة مبيدات البروموفوس (B) والميثايل براثيون f(P) بينما لم يحدث تغيير فى حالة الملاثيون الاكثر قطبية (M) والذى ازيح فى النهاية . المذيبات الضعيفة مثل الهكسان والبنزين والميثيلين كلوريد لا تحدث اية تغييرات فى نظام الازاحة . مواد الإدمصاص الثانية والثالثة والرابعة والخامسة قد يعاد تنشيطها خلال الإزاحة بالمذيب نظرا للتخلص وإزالة بعض الماء الغير نشط من العمود . ومن ثم فان سريان مذيبات البنزين الجاف او الدا؛ى ايثيل ايثر خلال العمود الذى يحتوى على ٣٠ جم الومينا Woelm ذات النشاط الخامس (V) سيؤدى الى تغيير نشاط الالومينا الى (II) . لمنع هذه المشكلة يجب ضبط محتوى المذيب من الماء باضافة مادة ادمصاص عالية النشاط (V) فى ايثر البترول والهكسان او باضافة الماء الى المذيبات العضوية الاخرى . المستخلصات المرافقة خاصة الدهون والزيوت قد تؤثر بدرجة كبيرة على ازاحة المبيدات ولكن هناك عينات اخرى تؤثر على نظام الازاحة كما فى الشكل (٣) .

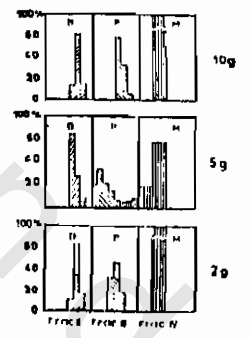
لقد درست الاختلافات فى معامل الانسياب RF بعد وضع الالواح فى كابينة تحتوى على هواء به نسبة ثابتة من الرطوبة . توضح النتائج الموجودة فى الشكل (٤) ان تأثير الرطوبة على قيم RF يعتمد كذلك على نوع السائل المستخدم فى الازاحة بالرغم من عدم حدوث تغير فى درجة



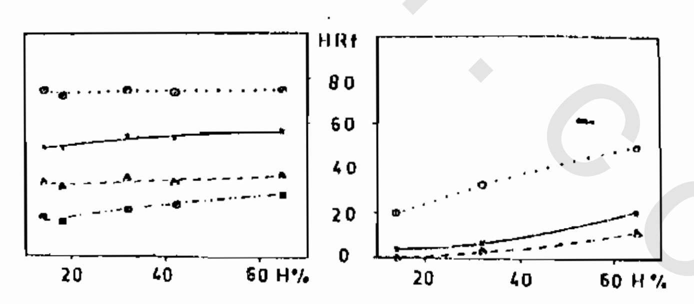
شكل (٢) : تأثير المذيبات على حجم الإزاحة – ظروف العمود كما فى الشكل ١ (b)



شكل (١) : نظام الإزاحة لمبيدات البروموفوس (B) والميثايل براثيون (P) والملاثيون (M) على أنواع مختلفة من السليكاجيل



شكل (٣) : تأثير مستخلصات التفاح على إزاحة البروموفوس (B) والميثايل براثيون (P) والملاثيون (M) – ظروف العمود كما فى شكل ١ (b)



شكل (٤) : تأثير الرطوبة النسبية على معدلات إنسياب مركبات Aziprotryn (O)
Secbymeton (□) Cyanazine (Δ) atrazine (X) DC Fertig & Latten مع
الثيرولين ايثير + الداى إيثيل إثير (١ + ٢) والميثيلين بروميد (b)

الازاحة لاكثر من ١٢٠ مركب . من الثابت ان درجة تشبع الكابينة تؤثر بدرجة كبيرة على قيم HRF والتى تينقص كلما زاد التشبع (جدول ١) .

جدول (١) : تأثير تشبع الكابينة على قيم معامل الانسياب . HRF

نوع الالواح وطبيعة الكابينة												
(B)						(A)						
S		CS		NS		S		CS		NS S		
CV%	HRF	CV%	HRF	CV%	HRF	CV%	HRF	CV%	HRF	CV%	HRF	
٤٢	١٩	٢٣	٢٢	٢٣	٢٧	٥٠	١٤	٣١	١٨	٢٩	٢٢	Pyrazophos
٢٩	٣١	١٧	٣٢	١٧	٣٩	٣٦	٢٢	٢٠	٢٣	١٧	٣١	Triazaphos
٢١	٣٨	١٢	٤٣	١٢	٥٢	٣١	٣٠	١٢	٣٢	١١	٤١	Etrimfos
١٣	٤٦	٩	٥١	٩	٦١	٢٤	٣٧	٨	٣٨	٧	٤٩	Butylate

A = Dc Fertigplatten Kieselget-60
B = Selfmade kieselgel 60 0.3 mm activated at 110 °C for 1 hour.
NS = كابينة بدون ورق ترشيح S = كابينة السندوتش المذيب = الميثيلين كلوريد
CS = كابينة بورق ترشيح

الكروماتوجرافى الغازى السائل Gas liquid chromatography :

بادئ ذى بدء يتأثر ثبات المركبات على الكروماتوجرافى بالمادة الوسيطة ومواد التعبئة ودرجة الحرارة ونوع المذيب . يتزايد تأثير النشاط السطحى بتناقص الكمية المحقونة . تحت الظروف السيئة فان الكمية الكلية للمادة المحقونة قد تتحلل وتنهار مما يعرف الكمية الصغرى الممكن الكشف عنها Minimun detectable Quantity (MDQ) أو الاعتماد على حساسية الكاشف . ومن ثم يجب ان يقاس المعيار MDQ مع عدم تمثيلها من المنحنى القياسى . لتقليل تأثير الشوائب المعدنية ومجاميع السيلانول السطحية تستخدم اكثر المواد خمولا والمغسولة بالحامض من الداى ميثيل داى كلوروسيلان او الكربوكس المعالج للتعبئة والمغلق مع الاوساط الثابتة ٣ ٪ فى تقدير المخلفات المتعددة MRM's . الاعمدة الزجاجية لوحدها غير كافية الخمول (عدم النشاط) لذا يصبح من الضرورى معاملتها بنفس الطريقة التى اجريت مع التعبئة . ولقد ثبت اهمية تأثير المواد المحقونة ومن الاهمية استخدام الكوارتز او البيركس المعامل بالسيلان . الصوف الزجاجى عند نهايات العمود مهم ايضا نظرا للكبر النسبى للسطح . من الملائم استخدام الصوف مع البيركس والسيلان وكذلك يوضع الصوف مع الكوارتز على قمة العمود حيث انه اكثر خمولا من الاول . ان خمول العمود يتفاوت تبعا للمواد المحقونة الملونة ونوعية الغاز الخامل . لذلك فان الاختبارات المنتظمة التى يستخدم فيها مخلوط من الكارباريل والبروفام هى للتأكد من سلامة العمود والجهاز . فلو ان نسبة استجابة الكارباريل/ بروفام متساوية او اكبر من ٠,٥ على مستوى ٥ نانوجرام يعنى ذلك ان خمول النظام مناسبا لتحليل المبيدات المتحركة .

يجب ان تكون المحاليل القياسية ومحاليل العينات المستخدمة جافة لا تحتوى على اى من

الشوائب الغير متطايرة والتى يجب ان تكون خاملة كذلك لتقليل حدوث الانهيار او التحول فى مادة التعبئة . من المحتمل ان يكون التسرب من اماكن الدخول والتلوث عند بداية العمود وطرق الحقن الغير مناسبة من مصادر التغيرات الغير متحكم فيها . الحل البسيط لهذه المشكلة يتمثل فى تغيير مكان الدخول Spetum والسنتيمترات القليلة الاولى من مادة التعبئة وبانتظام وهناك وسائل اخرى تحتاج لخبرات كبيره . من اكثر المعايير شيوعاً لتعريف المركبات القيم الخاصة بالارتباط النسبى Relative retention . البيانات الخاصة بهذا المعيار يمكن تحقيقها فقط لو ان حرارة العمود متساوية عند المقارنات المختلفة . العلاقة الموجبة بين درجة الحرارة ووقت الارتباط النسبى يساعد على اتخاذ بعض المركبات المختارة مثل الميثايل براثيون والملاثيون والديلدرين والبارا – بارا – د د ت واستخدامها لمعايرة الحرارة الظاهرية للعمود فى مختلف الاجهزة . يجب ان توجه عناية خاصة لتأثير حرارة المحقن Injector اذا كان هناك جزء من مادة التعبئة فى مغلق المحقن . لقد سجلت اوقات الارتباط النسبية RT لعدد كبير من مختلف المبيدات على درجات حرارة متفاوتة فى كتاب الـ EPA . وقد يختلف عامل الاستجابة للمركبات ونفس الشئ بالنسبة للاختيارية من وقت لاخر حتى مع نفس الكاشف . على القائم بعملية التحليل الاحاطه بالقدرات الحقيقية للكاشف والتى يمكن الحصول عليها ومعرفتها بالحقن المنتظم لمخلوط اختيار مناسب وقياسى .

المشاكل المتعلقة بملاءمة الطرق Problems with the adaptation of the methods

*** خصائص العمليات الفردية لتحليل المخلفات Characterization :**

ادى الازدياد الكبير فى ضرورة التحكم فى استخدام المبيدات على المستوى العالمى الى الحاجة الملحة والضرورية لاجراء عدد كبير جدا من التحليلات بصورة منتظمة بل روتينية . اصبح من المألوف تقدير مستوى مخلفات المبيد فى نفس العينة فى معامل مختلفة . وهذه المستويات توضح ان نتائج التحليل الخاصة بها متماثلة وفى حدود مدى مقبول ومتفق عليه . يمكن تقسيم عمليات تحليل المخلفات فى ثلاثة مجموعات رئيسية مختلفة تبعا للتغيرات المتوقع حدوثها فى الطريقة المتبعة للتحليل دون التأثير على النتائج .. يمكن التنويه لهذه المجاميع فيما يلى :

*** المجموعة الاولى : العمليات الاجبارية Obligatory operations :**

يعتمد اسلوب وطريقة اخذ العينات وتقسيمها وفصلها الى اجزاء جاهزة للتحليل على بعض العوامل وأى انحراف عن الطريقة الموصوفة المقبولة ستغير من النتائج وتجعلها غير قابلة للمقارنة . لا يمكن التحكم السهل فى كفاءة الاستخلاص خلال التحليل . من المعلوم ان الاسترجاع من العينات المقواة يشير فقط للفقد خلال التحليل . من الضرورى عند تطوير طريقة جديدة او حتى عند استخدام الطريقة المنشورة لتقدير مركب جديد تحديد كفاءة الاستخلاص ومن ثم يجب وصف النتائج بدقة وسبل الحصول عليها .

* المجموعة الثانية : العمليات المتحكم فيها Controllable operations :

يمكن التحكم فى كفاءة وصلاحية عمليات التحليل (تخزين العينة – الترشيح – التبخير – الفصل الكروماتوجرافى) عن طريق دراسات الاسترجاع العادية او اية وسائل اخرى . يمكن تغيير نوعية المواد والجواهر الكشافة فى الطريقة الاصلية بعد اختيار البدائل المناسبة والتأكد من الحصول على نفس النتائج النهائية .

* المجموعة الثالثة : عمليات تتطلب ظروفا خاصة

Operations requiring individual optimisation

تحتاج الاجهزة المختلفة ظروف مختلفة لتحقيق الكفاءة المناسبة . وعلى سبيل المثال لا بد من الاختلاف التام فى معدلات انسياب الايدروجين والنتروجين والهواء وكذلك الحرارة لتحقيق نفس حدود التقدير والكشف والاختيارية فى الكاشفات الحرارية الايونية thermionic detectors . ومن ثم تكون هناك حاجة ضرورية لجعل كل جهاز فى الظروف المناسبة التى تلاءم طريقة التحليل وليس مجرد الإكتفاء باتباع الظروف الموصوفة فى الطريقة بدقة متناهية .

* وصف الطريقة Description of the method :

يجب ان تمكن وصف الطريقة من تطبيقها وتطويرها وتحويرها وكذلك الاستخدام الامثل وتمثيل النتائج . من المؤسف ان التفاصيل المتاحة فى جميع النشرات تكون غير كافية لتحقيق هذه الاهداف . بالاضافة الى البيانات العادية فان هناك حاجة الى معلومات خاصة لمقابلة المتطلبات المذكورة أعلاه ومثال ذلك طريقة اخذ العينات (وزن العينة – عدد العينات الاولية) ومرجع عن مكان نشر اسلوب وطريقة اخذ العينات ، وجزء العينة الذى يدخل فى التحليل (كيفية التجهيز) ، ثبات المخلفات خلال التخزين وكفاءة طريقة الاستخلاص الخاصة بالمركبات المختبرة ، درجة حمل اعمدة الكروماتوجرافى معبرا عنها بوزن العينة ، المركبات المناسبة للتحكم فى نظام الانسياب المناسب ، عدد الواح اعمدة GLC المناسبة والمطلوبة لفصل المركبات او الضرورية لتحقيق اغراض عامة ، حرارة العمود ومكان الحقن وكذلك وقت الظهور النسبى للمركبات مجال التحليل ومدى تخصص الكاشف وحدود الكشف (جرام/ثانية) واقل كمية يمكن الكشف عنها (g) وتخصص الجواهر الكشافة للـ TLC والمركبات المناسبة للتحكم فى الازاحة والكشف مع الـ TLC وكذلك حدود التقدير (ملليجرام/ كجم) ومعدلات الاسترجاع (محددة للمستوى) .

الاستنتاج Conclusion :

يمكن زيادة كفاءة عملية تقدير المخلفات المتعددة MRM's عن طريق اتباع هذه الخطوات بدقة :

أ – اتباع التعليمات الخاصة بالطريقة فيما يتعلق بتجهيز العينة والتجانس والاستخلاص دون اية تغييرات .

ب – تقدير الاسترجاع بعد عمود الكروماتوجرافى والترشيح والتبخير عند تطوير طريقة جديدة ثم تقدير الاسترجاع لهذه الطريقة بصورة منتظمة وخاصة عند استخدام مجموعات جديدة من الكيميائيات ثم تقدير الفقد خلال التخزين كما يجب المقارنة المنتظمة للمحلول القياسى مع المواد القياسية .

جـ – ملاءمة معايير كل جهاز حيث لا يجب التقيد بالظروف المكتوبة فى النشرات واستخدام طريقة المادة القياسية الداخلية Internal standard بقدر الامكان وكلما كان ذلك ممكنا . كذلك يجب التحكم المناسب فى ظروف الازاحة والكشف مع مخاليط الاختيار أو فى حالة TLC مع المركبات الكشافة .

د – تأكيد كل النتائج الايجابية .

الفصل السادس والعشرون

– الوضع الحالى والمستقبلى للطرق المتعددة لتقدير مخلفات المبيدات :

– مقدمـــــة .

– عملية التحليل :

١ – فحص مستخلص الاسيتون بواسطة الكروماتوجرافى الغازى .

٢ – اختبارات اضافية لمستخلص الاسيتون .

٣ – الكشف عن المستخلص المائى .

٤ – الكشف عن المواد الصلبة .

ى– الاعتبارات الحالية والمستقبلية .

قائمة المراجع



الوضع الحالى والمستقبلى للطرق المتعددة لتقدير مخلفات المبيدات

Current and Future Status of Pesticide Multiresidue Methodology

مقدمــــة Introduction :

قد تختلف متطلبات الطريقة التى تستخدم لتقدير العديد من مخلفات المبيدات الموجودة معا فى العينة Multi residue method تبعا لمسئوليات المعامل وعاملى الوقت وعمق التحليل . يتضمن البرنامج الامريكى لهيئة الغذاء والادوية هدفين رئيسيين : الاول لتحديد ما اذا كانت مخلفات المبيد فى الغذاء والاعلاف تزيد عن الحدود المسموح بها او ليست لها حد مسموح وتخضع لاجراء تنظيمى تشريعى مناسب . والهدف الثانى جمع بيانات عن مخلفات المبيدات فى الغذاء والاعلاف لتقييم درجة الامان وتحديد موقف الانشطة المباشرة والتخطيط للبرامج المستقبلية . تشترط سلطات ولاية لوس انجلوس ضرورة استكمال تحليل العينات فى نفس يوم وصول العينات حتى يمكن اتخاذ اية اجراءات تنظيمية اذا تطلب الامر ذلك . ان نقص المعلومات عن المبيد المستخدم على اى منتج خاص تتطلب اجراء مسح شامل خلال ساعات قليلة من وصول العينة للمعمل . الطرق الرسمية المذكورة فى AOAC (١٩٩٠) مقصورة على المبيدات الكلورينية والفوسفورية العضوية ، بينما مستخلص الاسيتون يحتوى على مخلفات اى مبيد عضوى الغير ايونية ، وحتى بعض المركبات الايونية . لقد استمر تطوير طريقة Luke بالتكامل مع الطرق المحدودة لتقدير المخلفات المتعددة لمركبات Benzimidazole (٥) و Cyhexatin (٦) والكاربامات (٧) والبيرثرويدز المخلقة (٨ - ١٠) والفينيل يوريا (١١) واحماض الكلوروفينوكس (١٢) والجليفوسات و Formetanate HCL والباراكوات (١٣) . وكل من هذه المبيدات او مجموعات المبيدات تستخلص من العينة النباتية باستخدام الاسيتون والماء او من السليلوز باستخدام الحامض . بعض المواد تتطلب ظروف خاصة لجهاز الكروماتوجرافى الغازى GC بينما يحتاج البعض الاخر الى عمليات ترشيح او تنظيف قبل الادخال فى جهاز HPLC . ولكنها جميعا يمكن ان تستكمل خلال ساعات قليلة وتنتهى عمليات التحليل .

عملية التحليل The analytical process :

يعمل الكيميائيون فى معامل تقدير المخلفات فى لوس انجلوس كفريق متكامل يضطلع بمهام تجهيز العينات وتقدير المخلفات الموجودة . وانسياب عمليات التحليل يتم بالتتابع او فى نفس الوقت باستخدام خط او سلسلة من الكيميائيات والاجهزة . يبدأ الفريق عملية التحليل باخذ ثمرة او ثمرتان فاكهة او عينة خضروات لتقدير ELBDC (ethylene-bis-dithiocarbamate) من خلال انطلاق ثانى اكسيد الكبريت بينما تستخدم بقايا العينات للاستخلاص (شكل رقم ١) .

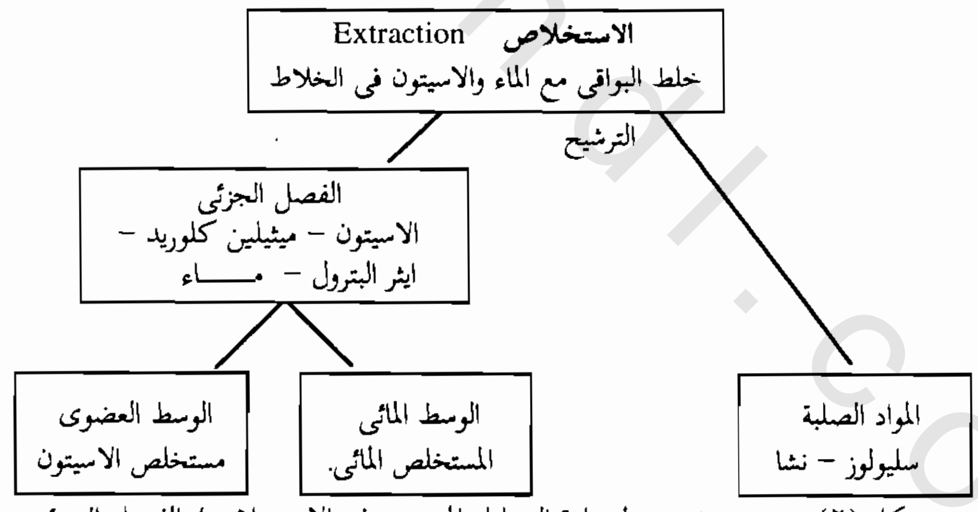
تجهيز العينات Sample preparation

تزال الانوية والسيقان واربطة الكاوتشوك وغيرها وتغسل الجذور

باقى العينـــة	
تقدر عن طريق قياس ثانى اكسيد الكبريت المنطلق بالطرق اللونية .	تطحن او تقطع او تفرم للحصول على مخلوط متجانس .

شكل (١) : رسم تخطيطى لتجهيز الثمار والخضروات للاستخلاص المتتابع تبعا لطريقة Luke .

يتم وضع ١٠٠ جم من البـواقى فى الخـلاط مع ٢٠٠ ملليلتـر من الاسيـتـون . ثـم يرشح مستخلص الماء / اسيتون للتخلص من الاتربة . ثم يؤخذ ٨٠ ملليلتر من السائل للفصل الجزئى ويعـاد استخلاص الجزء الصلب مرتان بالاسيتون قبل اجراء الاستخلاص بالحامض لمبيدى الباراكوات والدايكوات . ثم يجرى الفصل الجزئى باستخدام ايثر البترول وكلوريد الميثيلين لفصل المذيبات العضوية عن الوسط المائى الذى يحتفظ به لتحليل الجليفوسات والفورميتنتات يد كل او اية مخلفات اخرى ذائبة فى الماء . ثم يركز الوسط العضوى فى مبخر كودرينادانيش عن طريق اضافة ايثرا لبترول لازالة كل اثار الميثيلين كلوريد تاركا المستخلص فى الاسيتون (شكل ٢) .

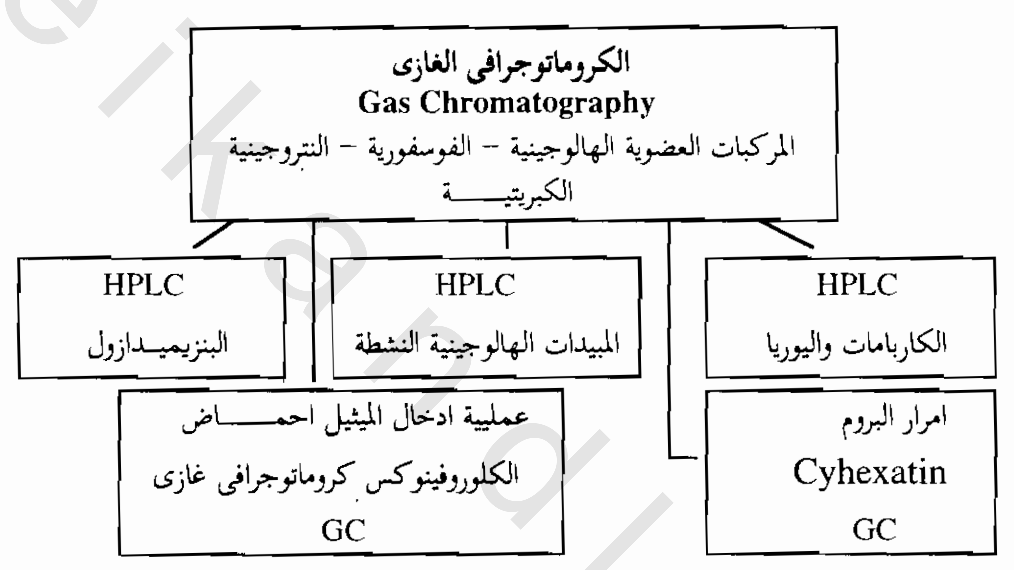


شكل (٢) : رسم توضيحى لعملية التحليل الموجودة فى الإستخلاص/ الفصل الجزئى من خلال طريقة ليوك .

١ - فحص مستخلص الاسيتون بواسطة الكروماتوجرافى الغازى :

تبدأ عملية فحص مستخلص الاسيتون لتقدير مخلفات المبيدات باختبارات الغربلة باستخدام

عدة نظم للكروماتوجرافى الغازى (شكل ٣) . وتقوم معامل لوس انجلوس بعمل ١٦ عملية كروماتوجرافى غازى يستخدم فيها اعمدة معبأة على درجة ٢٠٠ م . هذه النظم تستخدم كاشفات اللهب اللونى (FPD-P) للمبيدات الفوسفاتية وكاشفات الفصل الكهربى Hall electrolytic conductivity للمواد الهالوجينية (ELCD-X) والمبيدات المحتوية على النتروجين (ELCD - N) . وتستخدم ثلاثة اوساط سائلة OV - ١٠١ و OV - ١٧ و DEGS وهى تعطى قطبية مختلفة لتعريف المركبات ذات الازاحة المتقاربة . قيم فترات الفصل Retention time لمئات من مبيدات الافات على هذه الاعمدة متوفرة فى كتاب التحليل (الجزء الاول) FDA Pesticide Analytical Manual . هناك العديد من الانظمة تعمل على ٢٢٠ م مع الأعمدة اقل من ١ م فى الطول وذلك للمركبات التى تنساب متأخرا مثل الجوثيون والبرمثرين (الاشكال من ٤ - ٩).



شكل (٣) : رسم توضيحى لمختلف طرق التقدير للكشف عن مخلفات المبيدات الموجودة فى مستخلص الاسيتون تبعا لطريقة ليوك .

٢ - اختبارات اضافية لمستخلص الاسيتون Additional examination :

عند انتهاء واستكمال الغربلة الاولى باستخدام الكروماتوجرافى الغازى GC يمكن تجهيز مستخلص الاسيتون للتقديرات الخاصة بالدراسات الاخرى بالـ HPLC والتحولات الكمية للمركب الاصلى Derivatization . يستخدم جزء من المستخلص لكل اختبار اضافى او للتقديرات جميعا فى التحليلات الخاصة . يمكن تقدير مركبات البنزيميد ازول كمجموعة باستخدام HPLC . تتحلل المبيدات بينوميل والثيوفينات ميثايل الى الكربيندازيم وهو يمثل المخلفات الموجودة فى مستخلص الاسيتون بعد عملية الفصل الجزئى . يضاف ١ ملليلتر من المحلول الايونى المزدوج ثم يوضح المخلوط خلال C18 - Sep - Pak ويرشح السائل خلال مرشح سعته

٤٥ر ميكرون ثم يحقن جزء فى HPLC المزود بكاشف الاشعة فوق البنفسجية UV والفلورسنت . يقدر الاللومينات وهى ناتج تحليلى اخر من مركب الثيوفينات ميثايل مع المركبات الاخرى . كما يوجد ايضا الناتج الثيوبندازول يمكن تحليله وتقديره بجهاز الكروماتوجرافى الغازى المزود بكاشف حساس للنتروجين .

كما يوجد فى مستخلص الاسيتون المركبين Cyhexatin و Fenjbutatin ولكنهما لا يكتشفا جيدا بالكروماتوجرافى الغازى مع معظم الاعمدة . يمكن تكوين مشتق البرومين البسيط مع السيهاكسيتن يفصل جزئيا مع الوسط العضوى . يمكن ان نقدر المركبين باستخدام الكروماتوجرافى الغازى باستخدام حامض الفوسفوريك فى العمود وكذلك بالكاشف صائد الالكترونات .

مستخلص الاسيتون

الكروماتوجرافى الغازى

انظمة الازاحة العادية فى اجهزة الكرماتوجرافى الغازى

لمبيدات الافات الهالوجينية

العمود	الوسط السائل	درجة الحرارة	طول العمود	الكاشف
المادة المالئة	OV-101	٢٠٠ م	٢ متر	ELCD-X
المادة المالئة	OV-17	٢٠٠ م	٢ متر	ELCD-X
الميجابور	Rtx-50	٢٠٠ م	١٥ متر	ELCD-X

لقد تم فصل وتعريف ١٤٠ مبيد ونواتج تمثيل بالكروماتوجرافى الخاص بالهالوجينات من ٣ر – ٧ بالنسبة للكلوربيريفوس (سادس كلورور البنزين والميثوكسى كلور)

شكل (٤) : ظروف التقدير بالكروماتوجرافى الغازى للكشف عن المبيدات الهالوجينية المزاحة بالطرق العادية .

مستخلص الاسيتون

الكروماتوجرافى الغازى

انظمة الازاحة المتأخرة فى اجهزة الكرماتوجرافى الغازى

لمبيدات الافات الهالوجينية

العمود	الوسط السائل	درجة الحرارة	طول العمود	الكاشف
المادة المالئة	OV-101	٢٠٠ م	١ متر	ELCD-X
المادة المالئة	الالترا بوند	٢٠٠ م	١ متر	ELCD-X

هذه النظم تتبع اساسا للبيرثرويدز المخلقة مثل البيرومثرين والفينفاليرات والسيبرمثرين

شكل (٥) : ظروف التقدير بالكروماتوجرافى الغازى للكشف عن المبيدات الهالوجينية المزاحة المتأخـــرة .

مستخلص الاسيتون

الكروماتوجرافى الغازى

انظمـــــة الازاحــــــة العاديـــة

للمبيدات المحتوية على الفوسفور

العمود	الوسط السائل	درجة الحرارة	طول العمود	الكاشف
المادة المالئة	OV-101	٢٠٠ م	٢ متر	FPD-P
المادة المالئة	OV-17	٢٠٠ م	٢ متر	FPD-P
المادة المالئة	DEGS	٢٠٠ م	١ متر	FPD-P

تم الكشف عن اكثر من ١٢٠ مبيدا ونواتج تمثيل تحتوى على الفوسفور بطريقة الفصل الكروماتوجرافى الغازى (من ١ر – ٤ بالقياس للكلوربيريفوس) (TEPP والشيون) يمكن فصل المركبات ذات القطبية العالية مثل الميثاميدوفوس والاسيفات والاميثوات والمونوكروتوفوس باستخدام المادة المالئة DEGS .

شكل (٦) : ظروف التقدير بالكروماتوجرافى الغازى لمبيدات الافات المحتوية على الفوسفور المزاحة بالطرق العادية .

مستخلص الاسيتون

الكروماتوجرافى الغازى

انظمة الازاحة المتأخرة للمبيدات المحتوية على الفوسفور

العمود	الوسط السائل	درجة الحرارة	طول العمود	الكاشف
المادة المالئة	OV-101	٢٢٠ م	٥ر متر	FPD-P
المادة المالئة	OV-17	٢٢٠ م	٥ر متر	FPD-P
الميجابور	Rtx-1	٢٢٠ م	١٥ متر	FPD-P

هذهة الانظمة تمكن من الكشف الكروماتوجرافى لاكثر من ٢٠ مبيد من تلك التى تزاح متأخراً مثل الكاربوفينيثيون والازينوفوس ميثايل والفوسالون .

شكل (٧) : ظروف التقدير بالكروماتوجرافى الغازى لمبيدات الافات المحتوية على الفوسفور والتى تزاح متأخرا .

مستخلص الاسيتون الكروماتوجرافى الغازى

العمود	الوسط السائل	درجة الحرارة	طول العمود	الكاشف
الميجابور	Rtx-1	٢٠٠ م	١٥ متر	ELCD-N
الميجابور	Rtx-35	٢٠٠ م	١٥ متر	ELCD-N
االميجابور	Rtx-50	٢٠٠ م	١٥ متر	ELCD-N

هذه الانظمة تكشف عن اكثر من ٤٠ مبيد مختلف او نواتج تمثيل تحتوى على النتروجين او الكبريت وليس الهالوجين او الفوسفور . يتراوح معدلات الإزاحة النسبية مقارنة بالكلوربيريفوس من ١ر – ٥ (من الـ EPTC وحتى الفينيروباثرين) . المركبات ذات الاهتمام الاكبر فى هذه النظم هى الكارباريل والميتاليكسيل والثيابندازول. تحتاج مركبات الالديكارب سلفوكسيد والميثوميل ظروف خاصة .

شكل (٨) : ظروف التقدير بالكروماتوجرافى الغازى للمبيدات التى تزاح بالنظم العادية والمحتوية على النتروجين .

مستخلص الاسيتون الكروماتوجرافى الغازى

انظمة الإزاحة العادية GC للمبيدات المحتوية على الكبريت

العمود	الوسط السائل	درجة الحرارة	طول العمود	الكاشف
االميجابور	Rtx-50	٢٠ م	١٥ متر	FPD-5

يمكن تقدير مخلفات مبيدات البروباجاريب والـ ET4 بهذا النظم وكذلك يستخدم كاختبار تأكيدى لوجود المركبات المحتوية على الكبريت .

شكل (٩) : ظروف التقدير بالكروماتوجرافى الغازى للمبيدات التى تزاح بالنظم العادية والمحتوية على الكبريت .

يمكن تقدير معظم الكربامات باستخدام GC الكروماتوجرافى الغازى مع الكاشف الحساس للنتروجين ولو ان بعض المركبات (مثل الالديكارب والميثوميل) تحتاج الى ظروف خاصة . البديل اخذ مستخلص الاسيتون للكروماتوجرافى الغازى قرب الجفاف ثم يخفف فى ٥ر ملليلتر من الاسيتون . يوضع ٤ر ملليلتر من هذا المستخلص فى العمود C18 SEP-1.Ak ثم يزاح باستخدام ٥٠ ٪ محلول الاسيتونيتريل / ماء . يرشح المزاح خلال مرشح ٤٥ر ميكرون ثم يحقن فى APlc بعد التحول الى امينات الميثيل والفلورسنت التى تقدر . هذا النظام قادر على تقدير اكثر من ٣٠ مركب كارباماتى ونواتج التمثيل metabolites . يؤدى احلال وحدة التحلل القلوى بنظام التحلل فى الاشعة فوق البنفسجية UV الى زيادة عدد ونوعية المبيدات التى يكشف عنها بما فيها مركبات الفينيل يوريا والمركبات النتروجينية .

يجرى فصل جزئى للبيرثرويدز المخلقة مثل البيرمثرين والفينفاليرات والسيبرمثرين وغيرها فى وسط عضوى ويسهل تقديرها بالكروماتوجرافى الغازى GC . الجهاز يجب ان يشغل على درجات حرارة عالية او ظروف خاصة لتحقيق حساسيات عالية . يمكن تقدير هذه المبيدات بجهاز HPLC المزودة بكاشفات النشاط الضوئى . يجرى تبخير للاسيتون حتى الجفاف باستخدام تيار من النتروجين الجاف ويؤخذ المخلفات فى الاسيتونيتريل . يرشح وسط الاسيتونيتريل فى مرشح ٤٥ر ميكرون قبل الحقن فى جهاز HPLC . نظام الجهاز HPLC يفيد ايضا فى الكشف عن بعض المبيدات الهالوجنية التى لا يكشف عنها جيدا بالكروماتوجرافى الغازى مثل الكابتان والفولبيت والديكوفول والميثوكسى كلور ... الخ .

يمكن تقدير مركبات الفينيل يوريا باستخدام مستخلص الاسيتون الكروماتوجرافى aceton extract GC . العديد من هذه المركبات يمكن الكشف عنها كروماتوجرافيا والبعض حساس جدا للحرارة ومن ثم يجب تحويلها الى مركبات اخرى يمكن تقديرها بالـ GC . التحليل يجرى بنفس طريقة تقدير الكاربامات باستخدام HPLC باستخدام عمود بعد التحول مع استبدال وحدة التحلل بالاشعة فوق البنفسجية للتحلل القلوى .

احماض الكلوروفينوكس مثل ٤،٢ - د والكلوروفينوكس اسيتيك اسيد ومركب الدايكامب والهلوكسيفوب تستخلص بالأسيتون / ماء وتفصل جزئيا فى الوسط العضوى للاسيتون . هذه تجرى لها عملية المثلة methelation باستخدام يوديد الميثيل والتترابيوتنيل امونيوم هيدروكسيد (TBAH) فى مستخلص الاسيتون لمدة ساعة . ثم يحقن المستخلص فى الكروماتوجرافى الغازى المزود بكاشف حساس للهالوجينات .

٣ - الكشف عن المستخلص المائى Aqueous extract :

قد يحتوى الوسط المائى للفصل الجزئى على مجموعة كبيرة من المبيدات الايونية مثل الدامينوزيد والجليفوسات والفورماتينات يد كل . والدامينوزيد يمكن ان يتحلل مائيا بقاعدة قوية وبعد ذلك يقطر UdmH للتقدير بالكروماتوجرافى الغازى او من خلال التفاعلات اللونية - كما يمكن ان يقدر الجليفوسات والفرماتينات يد كل بواسطة جهاز HPLC . قد توجد مبيدات اخرى

تحتوى على ايونات ذائبة فى الوسط المائى يمكن ان تقدر بالاجهزة المناسبة .

٤ - الكشف عن المواد الصلبة Solid materials :

المادة الصلبة التى تتبقى على المرشح بعد الاستخلاص الاساسى بالاسيتون يمكن استخلاصها مرتان بالاسيتون حتى ينتج مسحوق ابيض نظيف . يمكن استخلاص الباراكوات والدايكوات باستخدام حامض قوى . وهذا المستخلص النظيف ينظم فى محلول منظم buffered ثم تحقن فى جهاز HPLC المزود بكاشف الاشعة فوق البنفسجية . لا يرتبط الدايفينزوكوات بشدة على السليلوز ومن ثم تفصل جزيئاته وسط الاسيتون العضوى .

الاعتبارات الحالية والمستقبلية Current & future considerations :

لقد طورت طريقة Luke حتى وصلت الى النقطة التى تحققت من خلالها وجود عمليات تحليل واسعة تقدم خيارات كثيرة امام القائم بالتحليل وهذا يعتمد على نوعية المخلفات المطلوب تقديرها . هناك العديد من مبيدات الآفات، ونواتج تمثيلها لم تدرج فى دراسات الاسترجاع وهذه يمكن تقديرها اذا توفرت اجهزة وطرق متقدمة . لقد قيمت العديد من التكنولوجيات فى بحوث تحليل مخلفات المبيدات . بالطبع تمر كل طريقة بالعديد من الاختبارات للحكم على فائدتها . بعض هذه الطرق ستصبح من ضمن الخيارات فى طريقة ليوك والبعض الآخر ستكون منافسة لها

طريقة السائل الفائقة التميز Super critical fluids قد تحقق الحصول على مستخلصات متخصصة او مستخلصات كلية . التغير فى الحرارة والضغط قد يغير من المركبات التى تستخلص . والتغيرات الاضافية فى الغازات ودرجة الحموضة تزود هذا التكنيك بامكانية فائقة فى الاستخلاص المتخصص والتى تعمل على تنظيف العينة فى نفس الوقت Clen-up . قد تستخدم هذه السوائل SCFS فى اجهزة التحليل للفصل الكروماتوجرافى . هذا التكنيك يفيد جدا فى تقدير المركبات التى تنهار بالحرارة .

لقد طور تكنيك نظم التقدير الحيوى باجهزة المناعة (immunoassays) لتقدير العديد من المبيدات ومنتجات تمثيلها وكذلك لمجموعات من المركبات المتشابهة . قد يستخدم هذا التكنيك بصورة منفصلة أو بالتكامل مع غيرها من طريق التقدير المتعدد للمخلفات .

العديد من المعامل تستخدم الكروماتوجرافى الشعرى واعمدة الميجابور والتى حلت محل الاعمدة المعبأة وتتميز الاعمدة الجديدة بطولها الزائد ويوجد فى معامل لوس انجلوس انواع مختلفة من الميجابور ذات القطبية المختلفة . عندما توضح الاختبارت قبول صلاحية هذه الاعمدة فى التعريف والتقدير الكمى للمخلفات يمكن ان تستخدم مكان الاعمدة المعبأة .

REFERENCES قائمة المراجع

1. P. S. Mills. J. H. Onley. R. A. Gaither, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 46 (1963) 186.

2. M. A. Luke. J. E. Froberg, H. T. masumoto J. Assoc. Off. Anal. chem. 58 (1975) 1020.

3. M. A. Luke. J. E. Froberg, G. M. Doose, H. T. masumoto J. Assoc. Off. Anal. chem. 64 (1981) 1187.

4. Official Methods of Analysis, 15th Edition, Edited by kenneth Helrich, Association of Official Analytical Chemists, Wahsington D. C. Volume 1, 982.22 (1990)

5. S. M. Walters, D. M. Gilvydis Laboratory Information Bulletin # 3217. U. S. Food & Drug Administration. Washington D. C. (1988).

6. T. James, dW. Langham. laboratory Information Bulletin #2292. U. S. Food & Drug administration, Washinton D. C. (1985).

7. Official methods of Analysis, 15th Edition, Edited by Kenneth heirich. Association of Official Analytical Chemists. Washington D. C., Volume 1, 975.40 (1990).

8. M. A. Luke. H. T. masumoto in Analytical methods for pesiticides and Plant Growth Regulators. Ed. Sherma and Zweig. Academic press. Vol XV. Chapter 6, page 161-200.

9. J. E. Forbergl. G. M. Doose in Analytical Methods for Pesticides and Plant Growth Regulators, Ed. Sherma and Zweig, Academic Press, Vol XIV. Chapter 2, page 41-74.

10. T. Cairns. E. G. Siegmund in Analytical methods for Pesticides and Plant Growth Regulators, Ed. Sherma and Zweig, Academic Press. Vol. XIV. Chapter 6. page 193-253.

11. R. G. Luchtefeld. J. Chromatogr. Sci. 23 (1985) 516.

12. pesticide Analytical Manual, U. S. Food & Drug Administration, Washington D. C. (1990).

13. L. Needham, D. paschal. Z. J. Rollen, J. Liddle, D. Bayse, J. Chromatogr, Sci. 17 (1979) 87.

الفصل السابع والعشرون

– الاختبارات التأكيدية

* مقدمة .
* طرق اختبارات التأكيد التقليدية .
* كروماتوجرافى الالواح المغطاة .
* الكروماتوجرافى السائل دو الضغط العالى .
* الكروماتوجرافى الغازى .

– الطرق البولاروجرافية « الاستقطاب » والطرق المرتبطة بها .

* مقدمة .
* ظروف التقدير البولاروجرافى والفولتامترى .
* الطرق البولاروجرافية الغير مباشرة .
* الاجهزة والمذبيات .
* مشاكل الفصل والمعاملات المسبقة للقياسية .
* الفصل والتقدير بالكروماتوجرافى .

١ – التحليل الكروماتوجرافى .

٢ – التحليل الكروماتوجرافى بالورق .

٣ – التحليل الكروماتوجرافى باعمدة الادمصاص .

٤ – التحليل الكروماتوجرافى عن طريق تبادل الايونات .

٥ – التحليل الكروماتوجرافى الغازى .

٦ – المذيب .

٧ – نظام المذيبات .

٨ – الصورة او الوسط الثابت

٩ – الصورة المتحركة .

١٠ – الكروماتوجرافى المعكوس .

١١ – عملية الفصل الكروماتوجرافى .

١٢ – كابينة الفصل .

١٣ – خط حدود المذيب .

١٤ – قيمة معدل الانسياب .

١٥ – HRF value

١٦ – Rst Value

١٧ – التدرج .

١٨ – الكشف .

١٩ – الكروماتوجرافى المرشد .

٢٠ – كروماتوجرام الشرائح .

٢١ – كروماتوجرام الخطوط او المناطق .

٢٢ – فترة الاتزان بالتشبع .

٢٣ – فترة الفصل الكروماتوجرافى .

٢٤ – المواد القياسية .

الاختبارات التأكيدية

Confirmatory tests

*** مقدمة Introduction :**

تلعب الاختبارات التأكيدية دورا هاما فى تحليل والكشف عن مخلفات المبيدات . فى الوقت الحالى يوجد القليل من طرق التحليل متاحة وهى قادرة لوحدها على تعريف مخلفات المبيدات فى كميات صغيرة جداً . الطرق المرتبطة بالطرق الاسبكتروفوتومترية ذات المقدرة على الفصل العالى بناء على الكتلة يحقق هذه الفترة الخاصة بالكشف والتأكيد على المخلفات ولكن بسبب التكلفة العالية والطبيعة المعقدة وظروف التشغيل الخاصة لم تجد هذه الطريقة مجالا واسعا وشيوعا فى تحليل المبيدات على مستوى المخلفات ولكنه يستخدم كاختبار تأكيدى بعد التحليل باى طريقة اخرى .

الهدف من الاختبار التأكيدى هو تأكيد النتيجة التى تحصل عليها الباحث فى التحليل الاولى لكنه يجرى تحت ظروف مختلفة تجريبيا عما اجريت فى التحليل الاولى وهذا الاختلاف قد يكون فى وسيلة القياس ومثال ذلك لو ان المبيد حلل بطريقة الامتصاص فى الاشعة فوق البنفسجية يمكن التاكيد باستخدام التحليل بالاشعة تحت الحمراء او الاسبكتروفوتومترى ذو الرنين النووى المغناطيسى . تستخدم المواصفات الطبيعية لتأكيد نتائج تحليل المخلفات خاصة مع الكروماتوجرافى الغازى حيث ان التغيير فى وقت الاحتجاز للمبيدات مع اختلاف الاوساط الثابتة يمكن الاعتماد عليه كاختبار تأكيدى . اختبارات التقييم الحيوى يمكن ان تستخدم لتأكيد نتائج الكروماتوجرافى او اى وسيلة اخرى . كذلك يمكن استغلال التحوير الكيميائى فى المركب للحصول على مركب معروف كاختبار تأكيدى وهذه قد تجرى على نطاق صغير او كبير وهى تتميز بالبساطة والسرعة وقد تكون طويلة وكثيرة الخطوات ولكنها تحتاج لجواهر كشافة خاصة واجهزة معينة .

كلما زاد عدد الاختبارات كلما تأكدت نتائج التحليل للمركبات المجهولة بدرجة افضل كثيرا من اجراء التحليل باختبار واحد مع ضرورة الاخذ فى الاعتبار ان بعض طرق التأكيد اكثر نفعا وصلاحية من غيرها وعلى سبيل المثال يعتبر بعض البحاث ان التأكيد بالكروماتوجرافى الغازى للمبيدات بناء على فترات الاحتجاز وعلاقتها بالاوساط الثابتة ذات درجات القطبية المختلفة من الطرق الغير جيدة الفقيرة . نفس الكلام يقال على كروماتوجرافى الالواح المغطاة حيث تستخدم نظم مذيبات مختلفة لتأكيد وجود المبيد . قيمة الاختبار التأكيدى تحدد بنوع التاكيد الذى تحقق مع المركب او مثال ذلك ان الاختبار الذى يعتمد على الامتصاص بالاشعة فوق البنفسجية على ٢٥٤ نانوجرام ذو استخدام قليل فى تأكيد التحليل بسبب ان العديد من المركبات تمتص فى هذه المنطقة . بعبارة اخرى يجب ان تكون اختبار التأكيد متخصص للحصول على معلومات مفيدة عن المركب المجهول ويجب ان يكون اختبار التأكيد مماثل فى حساسيته لنفس طريقة التحليل القياسية . كما يجب ان تكون الطريقة قادرة على الكشف عن المواد المجهولة فى الوسط المعقد من خلال

تجنب المواد المجهولة فى الوسط المعقد من خلال تجنب المواد المتداخلة من خلفية التحليل وعن غيره من المبيدات . يجب ان يكون التحليل بسيطا وسريعا .

معظم طرق التأكيد تتضمن بعض خطوات الكرماتوجرافي وغالبا يستخدم الكروماتوجرافى الغازى وكروماتوجرافى الالواح المغطاة وبعدها الكروماتوجرافى فائق المقدرة ذو الضغط العالى . لقد اختلفت تقريبا طرق التحليل القياسى التقليدية فى الكشف عن اثار مخلفات المبيدات فى العينات المحتوية عليها . من اكثر الطرق شيوعا مع الكروماتوجرافى هو تحويل المركب المجهول لمركب آخر يمكن تقديره بنفس طريقة الكروماتوجرافى التى استعمل فى الطريقة الأساسية . وميزة هذا التكنيك عدم الحاجة الى اجهزة مكلفة لاختبارات التأكيد علاوة على ان تفاعلات التحول عالية التخصص فى تعريف المركبات المجهولة.

* طرق اختبارات التأكيد التقليدية Classical confirmatory tests :

منذ اختراع الكروماتوجرافى الغازى قبل ٢٠ عاما مضت قلت وانحسرت طرق تحليل المبيدات التقليدية بالطريقة المثلة فى الاهمية . ترتبط هذه الطرق بالتكنيكات الاسبكتروفوتومترية التى تستخدم فيها الاشعة فوق البنفسجية والضوء المرئى والامتصاص فى الاشعة تحت الحمراء للمبيد نفسه او لأحد مشتقاته فى القياس وبينها علاقة بالتركيزات . الطرق اللونية (الامتصاص المرئى) للمشتق المناسب من الوسائل العادية لتحليل المبيدات بالطريقة الكيميائية المثلة بينما تستخدم الاشعة تحت الحمراء لأغراض التأكيد بتعريف المجموعات الفعالة . الطرق اللونية لمستحضرات المبيدات مازالت تظهر فى المراجع وهذه تفيد فى تقدير نوعية المستحضرات مع العلم بان المادة الفعالة فى المستحضر معروفة والمطلوب فقط من الاختبار هو تحديد التركيز (المراجع ارقام ١ ، ٢ ، ٣ – ٦) وهناك مراجع كثيرة عن الجواهر الكشافة لاظهار المبيدات (المرجع – ٧) .

* كروماتوجرافى الالواح المغطاة Thin layer chromatography :

تستخدم طريقة TLC بشكل كبير لتأكيد النتائج التى تحصل عليها من الكروماتوجرافى الغازى او اى طرق اخرى حيث يعتمد التأكيد على قيمة الانسياب RF وهذه القيم تستخدم ايضا للمقارنة بين كفاءة وصلاحية المذيبات المختلفة والاعتماد على هذه القيم لوحدها قد يتسبب فى اخطاء شنيعة . ان الاختبارات التأكيدية الكيميائية مع TLC تعطى معلومات مفيدة فى تعريف المبيد حيث يمكن اجراء التفاعل قبل TLC حيث يجرى اختبار تحويل المركب الاصلى وبعد ذلك يستخدم الـ TLC للتأكد من المركب الناتج . فى المقابل يمكن اجراء اختبار التأكيد مع الـ TLC عندما يكون المركب ما زال على طبقة الجيل باستخدام ثلاثة جواهر كشافة مختلفة وفى هذه الحالة ترتبط قيم RF مع المبيد . لقد سـبق وصف هذه الطرق بالتفصيل من قبل .

تفاعلات الرش لاظهار بقع تواجد المبيد المفصول على الـ TLC تماثل ما يحدث مع تفاعلات المحاليل باستثناء انها تجرى على طبقات ادمصاصية . حيث ان معظم المبيدات عديمة

اللون خاصة فى حالة التركيزات البسيطة المستخدمة فى الـ TLC تستخدم محاليل او جواهر كشافة للرش ليس للتأكيد فقط ولكن لاظهار البقع . يمكن معاودة رش نفس البقع بمواد اخرى للتأكيد بناء على تداخل قيم الـ Rf وتحدث استجابات موجبة أو سالبة لجواهر كشافة معينة كما تتكون الوان مختلفة وحساسية هذه الجواهر الكشافة فى حدود ميكروجرامات قليلة وهى مناسبة تماما للكشف عن المستحضرات وتحديد الجودة ولكنها لا تصلح مع المخلفات . الجدول التالى يوضح العديد من الجواهر الكشافة التى تستخدم للكشف عن المبيدات المفصولة بالـ TLC (التفاصيل موجودة فى المراجع ٥١ – ٥٣) .

لقد شاع استخدام طريقة دمج TLC مع الانزيم للتفرقة بين المبيدات وكذلك لتأكيد نتائج التقدير الاخرى . قد سبق الكلام عنها بالتفصيل وهى تلائم جدا انواع المبيدات التى تؤثر على النظم الانزيمية مثل المبيدات الفوسفورية والكربامات والحساسية فى حدود نانوجرامات . يستخدم مخلوط الانزيم مع الوسيط على الطبقات رشا بنفس الطريقة المستخدمة مع الجواهر الكشافة والكيميائية .

تكوين المشتقات الكيميائية للتأكيد على نوعية المبيد فى التحليل للمستحضرات او المخلفات قبل اجراء عملية الـ TLC لم تلق شيوعا . تتميز هذه الطريقة انه يمكن التحكم اكثر فى ظروف التفاعل كما انها اوسع من محاليل الرش على طبقات الادمصاص TLC كما ان هذه الطريقة « التفاعلات ما قبل TLC » تتضمن تكوين مشتقات ملونة او فلوريسينية مع تجنب عدم انتظام الخلفية فى حالة الرش . لسنا فى حاجة للقول ان قيم الانسياب RF للمركب المتحول تختلف عن قيم المركب الاصلى مما يمكن استغلاله فى التأكيد . كما يمكن استخدام جواهر كشافة اخرى تعطى الوان مختلفة عن الاصل . استخدم الباحث Ishikawa وآخرون عام ١٩٧١ مشتقات ٤ ينتروبنزين ديازو الموجودة فى الشق الفينولى لبعض المبيدات الحشرية الكارباماتية للتقدير فى حبوب الازر حيث يجرى تحليل مائى للمركبات فى البداية والفينولات الناتجة تتحول الى مشتقات ملونة للفصل والتقدير . لقد اجرى Yip and Howard عام ١٩٦٦ عملية مثللة لمبيدات حشائش منها مجموعة داى نيتروفينول للفصل بعد ذلك بالـ TLC باستخدام الكروماتوجرافى المعكوس . يتم اظهار المشتقات بالرش بمخلوط من كلوريد القصديروز مع بارا – داى ميثيل امينو بنزالدهيد كما فى الجدول (١) . مشتقات الميثيل اكثر حساسية يمكن الكشف عنها فى حدود صغيرة للغاية.

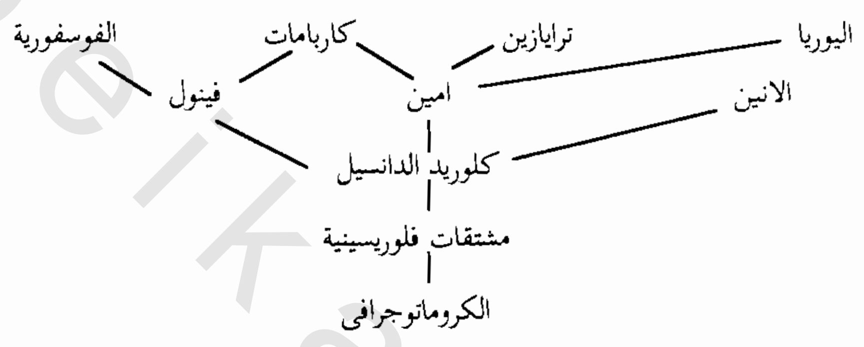
جدول (١) : الجواهر الكشافة لرش المبيدات المفصولة على الألواح المغطاة

Pesticide	Spray reagent	Reference
Organochlorine insecticides	AgNo3, 2-phenoxuethanol	8
	AgNo3 in layer	9
	Diphenylamine, zinc chloride	10
	Rhodamine-B	11
	0-Toluidine	12
	Iodine vapor	13
Organochlorine herbicides	AgNo3, 2-phenoxuethanol	8
	Chromotropic acid	14
Organophosphates	Tetrabromophenolphthalein, AgNo3, citric acid	8
	4-(p-Nitrobenzyl) pyridine, tetraethylenepentamine	8, 15
	Bromine, AgNo3	16
	2, 6-Dibromobenzoquinine-4-chloroimide	17-19
	Ammonium molybdate, perchloric acid	18, 20
	Rhodamine B	21
	Flavones	22
	1,2-Dichloro-4, 5-dicyanobenzoquinone	23
	Congo red	24
	Fluorescein	24
	$PdCl_2$	24
	Metal ion, chelating agent	25, 26
	4-Picoline, p-dinitrobenzene	27
	AgNO3, Platinate	28
	Benzylcyanide, triton B	29
	Methyl yellow	30
Carbamates	KOH, p-nitrobenzenediazonium fluoborate	31
	Bromine, fluorescein	31
	Rhjodamine-B, ultraviolet	31

Pesticide	Spray reagent	Reference
	Pentacryptol yellow	31
	p-dimethylaminobenzaldehyde	32
	AgNo3, 1-naphthol	32
	Bratton-Marshall	33
	k2MnO3, ultraviolet	34
	Diphenylpicrylhydrazyl	35
	vanillin, sulfuric acid	35
	Ninhydrin	36
	Flavones	37
Triazines	Chlorination, Tobludine, KI	38
	AgnO3	39
	Brilliant green, bromine	40
Dinitrophenols	Stannous chloride, p-dimethylaminobenzaldehyde	41
	KOH, ultraviolet	42
	Bratton-marshall	43
Uracils	Brilliant green	44, 45
Dithiocarbamates	$CuC1_2$, hydreoxylamine	46
	Sodium azide	47
Pyrethrins	Anisaldehyde, H_2SO_4	48
	$SbC1_3$	
Methylenedioxyphenyl	Chromotropic acid, H_2SO_4	49
synergists	Furfural, H_2SO_4	49
	SbC13	50
	Phosphomolybdic acid	50
	2, 4-Dinitrophenylhydrazine	50
	KI, starch	50
	AgNo3, KOH	50

استخدمت المشتقات الفلوريسينية لتقدير المبيدات بالـ TLC (المرجع ٥٥) قد ثبت كفاءة العديد من الجواهر الكشافة تصلح للكشف عن الكميات الدقيقة من المبيدات . استخدم مادة دانسيل كلوريد (٥ - داى ميثيل امينوفثالين - ١ - سلفونيل كلوريد) للكشف عن نواتج التحليل القلوية للكاربامات (مرجع ٥٦) والبوريا (٥٧) وبعض المبيدات الفوسفورية (٥٨) والهيدروكسى بيفينيل (٥٩) فى العينات المحتوية على ٠,١ جزء فى المليون او اقل . كما اختبر هذا الجوهر الكشاف للتأكد من مبيدات الحشائش الترابازين بعد التحلل المائى يبالحامض فى المواد الغذائية .

توضح الخريطة (١) تكوين مشتقات الدانسيل للعديد من المبيدات .

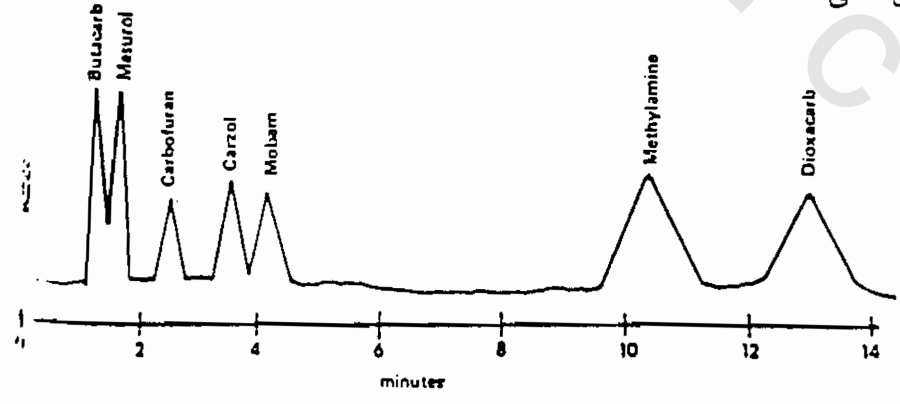


شكل (١) : تكوين مشتقات الدانسيل .

* الكروماتوجرافى السائل ذو الضغط العالى

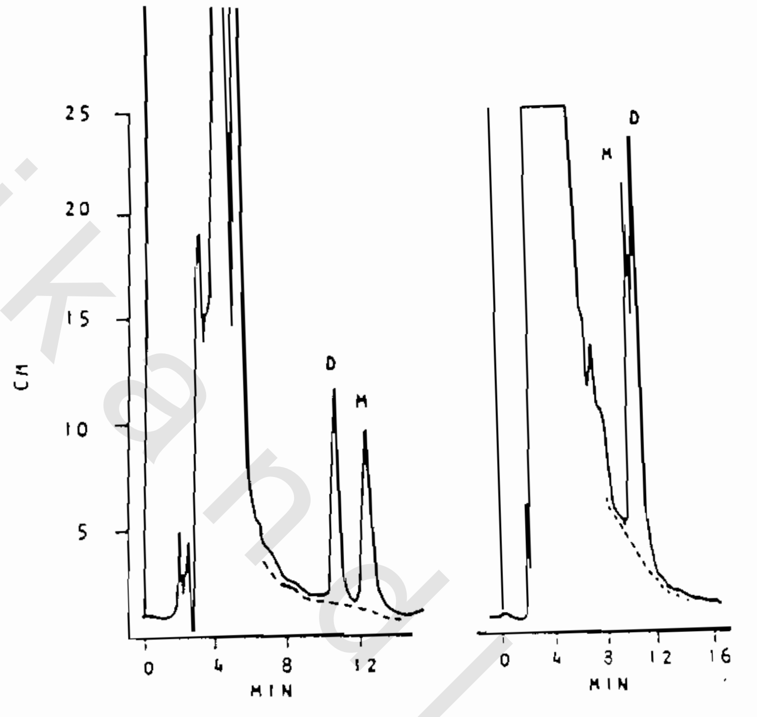
High pressure liquid chromatography

العديد من التفاعلات التى تستخدم لتكوين المشتقات قبل الفصل بالـ TLC يمكن ان تستخدم مباشرة للتحليل بالكروماتوجرافى السائل ذو الضغط العالى HLPC . هناك العديد من التفاعلات ونظم الكشف بهذه الطريقة لمشتقات العديد من المركبات (٥٥ ، ٥٧) والمبيدات . استخدم طريقة الدنسلة الفلوورومترية للكشف عن مركبات الكاربامات بالـ HLPC كما فى الشكل التالى :



يمكن تقدير البينوميل بتكوين مشتق MBC بواسطة التحلل المائى الحامضى (٧٩) وحساسية الطريقة فى حدود ٠,٠٥ – ٠,١ جزء فى المليون فى مختلف المحاصيل والاراضى . التأكيد على مركبات البوريا كمبيدات حشائش بواسطة المثللة methylation فى المواد الغذائية (٨٠) وحساسية فى حدود ٠,٠٥ جزء فى المليون .

الشكل (٤) يوضح الكشف التأكيدى للمونيرون والديورون فى الذرة ... هناك تفاعلات التحويل مثل الاستلة والاختزال ... الخ .



* **الكروماتوجرافى الغازى Gas chromatography** :

من اكثر الطرق شيوعا فى تحليل المبيدات على صورة المستحضرات او المخلفات . هذا الاسلوب مهم جدا فى الاختبارات التأكيدية وهو من اكثر اختبارات التأكيد للمبيدات الكلورينية خاصة الـ د د ت ومشتقاته بعملية فقد الكلورة بالقلوى "dehydrochlorination" مثل الصوديوم أو بوتاسيوم بتوكسيد .. كما فى الجدول التالى :

جدول (٢) : الإختيارات التأكيدية للمبيدات الكلورينية العضوية

Pesticide class	Reagent or reaction type[a]	Reference
General	CrC12 reduction (26)	104
	KOH dehydrochlorination (46)	84, 105
Hexachlorobenzene	Base/alcohol	100-103, 106
(HCB)	KOH hydrolysis/diazomethane	101
BHC isomers	NaOMe/MeOh or	
	GC alkaline precolumn	102
Cyclodiene	Comparisons of 8 methods (D)	107
insecticides	10 various reactions (D)	108
	BCi3/2-chloroethanol (D/E)	109
	UV irradiation (D/E./H)	110-113
	H2SO4 or 60% KOH (E/M)	114
	t-BuOK/t-BuOh or $CrCl_2$(E/M)	91, 92, 115, 116
	Acid or base-Al2O3 micro	
	column (C/E/H/T/M)	117-122
	Base-catalyzed intramolecular	
	cyclization (T)	123
	Silylation/acetylation (T/M)	124
Mirex	UV dechlorination	125
Kepone	KOH/esterification	126
	$LiAlH_4/PCl_5$	127
PCBs	$SbCi_5$ perchlorination	128-130
Chlorobiphenyls and PCP	Acetylation and butylation	131
DDT	Reduction and /or oxidation	132, 133

[a]Figures in parentheses indicate the number of pesticides studied, whereas letters indicate the particular pesticide (s) confirmed: C = chlordanes, D = dieldrin, E = endrin, H = heptachlor, T = Thiodan (endosulfan) , and M = metabolites.

(Source : From Ref. (82), courtesy W. P. Cochrane and the Journal of Chromatographic Science.)

هناك طرق عديدة للمبيدات الفوسفورية العضوية من اهمها اجراء التحلل المائى على ان يكون متبوعا بتحوير فى مجموعات الفوسفات او الا لكيل او الاريل . مشتقات مجموعة الفوسفات تتضمن الالكلة مع الداى ايزوميثان او الداى ايزو ايثان والتحليل المائى يجرى تحت ظروف قاعدية ثم يتبع بالتنظيف والفصل لمجموعة الفوسفات بعملية الالكلة وتحويلها الى الالكيل ايثر . هذه الطريقة حساسة فى الكشف عن مخلفات المبيدات فى العديد من المواد الغذائية .

الاختبارات التأكيدية للمبيدات الفوسفورية التى تشمل مشتقات التحلل الفينولى اكثر تخصصا عن نظيرها من مشتقات مجموعة الفوسفور ، نشير الى ان اى مجموعة فينول تتكون من الانهيار البيئى او تمثيل العينة يمكن التخلص منها فى البداية ثم تحلل وحدها ومن ثم لا تتداخل مع الاختبارات التأكيدية للمركب الاصلى . تفاعلات الاشتقاق لمجموعات الفينول تتضمن تكوين الاسترات أو الايثيرات . الاسترة بمركب التراى فلورواسيتيك انهيدريد (TFAA) او هيتافلوروبيوتيريل انهيد ريد (HFBA) وغيرها من الجواهر الكشافة تعطى استجابة كبيرة لاصطياد الالكترونات (المراجع ١٣٨ - ١٤٠) .

التأكيد من خلال المعاملة المباشرة للمبيدات الفوسفورية (المركبات الصلبة) ذات ميزات عديدة حيث نتجنب خطورة التحلل المائى والاستخلاص مما يوفر الوقت ويقلل من عدد العينات . الاختبار التاكيدى من خلال الأكسدة للمركبات الفوسفورية المحتوية على التركيب فو = كب وتحويلها الى فو = أ بواسطة هيبوكلوريت الصوديوم حساسة للكشف عن مركبات البارائيون والملاثيون والميثيل برائيون والفنيتروثيون والرونيل والديازينون فى حدود تركيزات من ٠,٢٥ وحتى ٠,٥ جزء فى المليون فى بعض الخضر والفاكهة (١٤٤) باستخدام الكشاف الضوئى باللهب (FPD) . المركبات الفوسفورية المحتوية على مجموعة النيترو يمكن التأكد منها بالاختزال الى مشتقات الامينو بواسطة المواد المختزلة مثل كلوريد الكروم او كلوريد الخارصين او الزنك مع حامض الايدوكلوريك . يتم الكشف عن المشتقات تحت نفس الظروف الكروماتوجرافية ولكن على فترات احتجاز قليلة بالمقارنة بالمركبات الصلبة (١٤٥) ولكن بسبب فقد النيترو تصبح المشتقات اقل حساسية لكشاف صائد الالكترونات . على سبيل المثال فان الامينو برائيون اقل بمقدار ٤٠٠ مرة فى الحساسية من البارائيون نفسه للكشاف ECD .

المركبات الفوسفاتية المحتوية على مجموعة امينو اولية او ثانوية يمكن تأكيد الكشف عنها مباشرة بالاستلة الفلورية الثلاثية "TFA - Trifluoroacetylation" وبهذه الطريقة يمكن تأكيد وجود مركب الازودرين عند مستويات من ٥ - ١٠ جزء فى البليون فى الفراولة باستخدام كشاف "FPD" .

الشكل (٨) يوضح التفاعل والشكل (٩) يوضح مثال لتأكيد وجود المادة الفعالة « مونوكروتوفوس » فى الفراولة .

الكلة المبيدات الفوسفورية المحتوية على مجاميع (ن يد -) استخدمت مع العديد من المركبات للكشف عنها مثل الكروفومات والدايمثوات والمونيتور وباير ٩٣٨٢٠ . حيث ان هذا التفاعل يجرى

فى ظروف قلوية عالية فانه لا يصلح للمركبات التى لا تتحمل القوى ولم ينجح مع مركب المونوكروتوفوس فى محاولة لتحويله الى البيدرين . لا يمكن التأكيد مع مركبات ن - ميثيل كاربامات بسبب الانهيار السريع فى الظروف القلوية (١٤٨) بينما مركبات ن - فينيل كاربامات ومشتقات اليوريا يمكن تأكيدها بهذه الطريقة لثباتها تحت هذه الظروف .

التقدير الاساسى لمركبات الكلوروفينوكس اسيد من خلال الكروماتوجرافى الغازى على صورة استرات الميثيل . التأكيد يمكن من خلال الاسترة الوسطية باستخدام مختلف الكحولات فى الظروف الحامضية تأكيد استرات الميثيل للمركبات ٢,٤ - د ، ٢، ٤، ٥ - تى ، ٢، ٤، ٥ - تى ، ٢,٤ - دى بى و MCPA فى حدود حساسية اقل من ٠,١ جزء فى المليون او اقل (١٥٠) . يجرى التفاعل فى ن - بروبانول وحمض الكبريتيك لتكوين استرات البروبيل . عملية ادخال البرومين لاسترات الكلوروفينوكس لتأكيد نتائج الكشف حيث ينتج التفاعل مشتق ٢ - برومو عندما تجرى بالبرومين فى حمض الخليك الثلجى (١٥٢ ، ١٥٣) .

هناك العديد من التفاعلات لتأكيد الكشف عن وجود مبيدات الترايازين وهذه تتضمن مجاميع الكلور لهذه المركبات كلورو - كب - ترايازين أو مجموعات - ن يد . يتحول الترابازين لتكوين TMS "Mono - trimethylsilyl" .

هناك طرق تأكيدية للمبيدات الحشرية من مجموعة الميثيل كاربامات والمبيدات الحشائشية للثيوكاربامات وكذلك الفينيل كاربامات والفنيل يوريا والمركبات المحتوية على مجموعة النيترو .

$$(CH_3O)_2P(=O)-O-C(CH_3)=CH-C(=O)-NH-CH_3$$

AZODRIN

↓ TFAA*

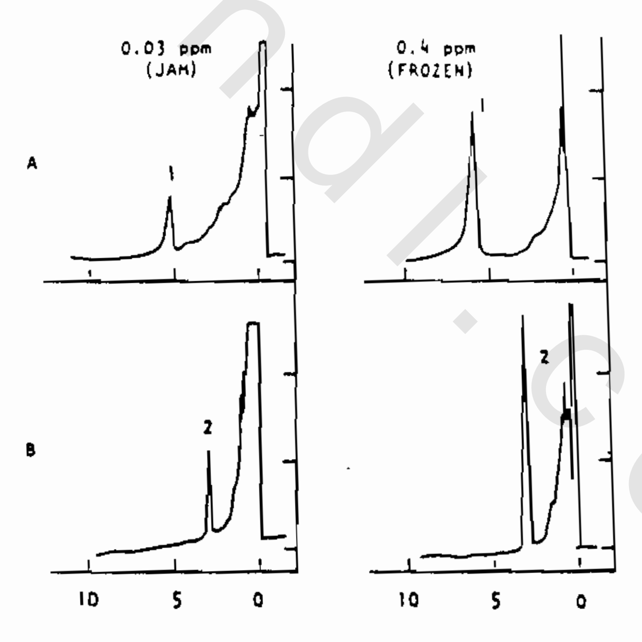
$$(CH_3O)_2P(=O)-O-C(CH_3)=CH-C(=O)-N(CH_3)-C(=O)-CF_3$$

TFA - AZODRIN

---

*TFAA = $CF_3-C(=O)-O-C(=O)-CF_3$

شــكل (٨) : تأكيــد الأزودريــن
بتفــاعل TFAA



شــكل (٩) : كروماتوجرام الأزودرين فى الفراولة (المربى والمجمدة) . A = أزودرين B
بعــد تفــاعــل TFAA

REFERENCES قائمة المراجع

1. W. Horwitz, Ed.. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C., 1975.

2. F. A. Gunther and R. C. Blinn. analysis of Insecticides and Acaricides. Interscience, New York, 1955.

3. S. Williams and J. W. Cook, Anal, Chem, 39, 142R (1967).

4. S. Williams and J. W. Cook, Anal, Chem, 37, 130R (1965).

5. W. E. Westlake, Anal. Chem. 35, 105R (1963).

6. W. E. Westlake, Anal. Chem. 33, 88R (1961).

7. F. Feigl. Spot Tests in Organic Analysis. Elselvlier, Amsterdam, 1966.

8. R. E. Duggan, Pesticide Analytical manual, Vol. 1. U.S. Food and Drug Administration, Washington, D. C., 1969. 4.

9. W. A. Moats, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 49, 795 (1966).

10. L. J. Faucheux, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 48, 955 (1965).

11. W. Ebing, J. Chromatogr. 44, 81 d(1969).

12. K. Visweswariak and M. Jayaram, J. Chromatogr. 62, 479 (1971).

13. K. Suzuki, K. Mujashita, and T. kashiwa, Bull. Agric. Chem. Insp. Sta. 10, 24 (1970).

14. C. Meinard, J. Chromatogr. 61, 173 (1971).

15. R. R. Watts, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 48, 1161 (1965).

16. B. Y. Giang and H. F. Beckman, J. Agric. Food Chem. 17, 63 (1969).

17. J. J. Menn. W. R. Erwin, and H. T. Gordon, J. Agric. Food Chem. 5, 601 (1957).

18. J. Stenerson, J. Chromatogr. 38, 538 (1968).

19. J. Stenerson, J. Chromatogr. 54, 77 (1971).

20. F. Jangnickel, J. Chromatogr. 31, 617 (1967).

21. W. Ebing. J. Chromatogr. 40, 180 (1970).

22. R. W. Frei, V. Mallet, and C. Pothier, J. Chromatogr. 59, 135 (1971).

23. P. E. Beliveau and R. W. Frei, Chromatographia 4, 189 (1971).

24. K. Nagasawa and H. Yoshidome, J. Chromatogr. 39, 2828 (1969).

25. P. E. Beliveau, V. Mallet, and R. W. Frei, J. Chromatogr. 48, 478 (1970).

26. T. F. Bidleman, B. Nowlan, and R. W. Frei, Anal. Chem. Acta 60, 13 (1972).

27. M. T. H. Ragab, Anal. Lett. 1, 973 (1968).

28. H. Beitz and M. Ehrt, Z. Chem. 8, 387 (1968).

29. W. Ebing, Chimia 29, 132 (1967).

30. M. T. H. Ragab, Lab. Pract. 20, 489 (1971).

31. K. Nagasawa; H. Hoshidome, and F. Kamata, J. Chromatogr. 52, 453 (1970).

32. M. A. Eldib, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 53, 756 (1970).

33. J. H. Onley and G. Yip, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 52, 526 (1965).

34. M. Look andc L. R. White, J. Chromatogr. 50, 145 (1970).

35. J. M. Finocchiaro and W. R. Benson, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 50, 888 (1967).

36. S. E. Katz, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 50, 911 (1967).

37. V. Mallet and R. W. Frei, J. Chromatogr. 54, 251 (1971).

38. S. Kondela, J. Chromatogr. 53, 589 (1970).

39. R. Delley, K. Friedrich, B. Karlhuber, G. Szekely, and K. Stammback, Z. anal. Chem. 228, 23 (1967).

40. D. C. Abbott, J. A. bunting, and J. thomson, Analyst 90, 357 (1965).

41. G. Yip and S. F. Howard, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 49, 1166 (1966).

42. D. R. Clifford, D. M. Fieldgate, and D. A. Watkins, J. Chromatogr, 43, 110 (1969).

43. A. Guardigli, W. Chow, and M. S. lefar, J. Agric. Food Chem. 19, 1181 (1971).

44. F. G. Von Stryk and G. F. Zajacz, J. Chromatogr. 41, 125 (1969).

45. D. C. Abbott, K. W. Blake, K. R. Tarrant, and J. thomson, J. Chromatogr. 30, 136 (1967).

46. J. W. Hylin, Bull, Environ. Contam. Toxicol. 1, 76 (1966).

47. M. S. Vekshtein and M. A. Klisenko, Vop. Pitan 29, 56 (1970).

48. E. Stahl and J. Pfeifle, Naturwissen, 52, 620 (1965).

49. M. Beroza, J. Agric. Food Chem. 11, 51 (1963).

50. E. Stahl, Arch. Pharm. 293, 531 (1960).

51. J. Sherma, analytical Methods for Pesticides and Plant Growth Regulators, Vol. 7 (G. Zweig, Ed.). Academic press, London, 1973, p. 3.

52. J. M. Carasco-Dorrien, Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment. 10, 357 (1970).

53. R. R. Watts, REs. Rev. 18, 105 (1967).

54. K. Ishikawa, Y. Yusa, Y. Asano, and K. Akasaki, Jap. analyst 20, 461 (1971).

55. J. F. Lawrence and R. W. Frei, J. Chromatogr. 98, 253 (1974).

56. R. W. Frei and J. F. Lawrence, J. Chromatogr. 67, 87 (1972).

57. J. F. Lawrence and G. W. Laver, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 57, 1022 (1974).

58. J. F. Lawrence, C. Renault, and R. W. Frei, J. Chromatogr. 121, 343 (1976).

59. M. Frei-Hausler, R. W. Frei, and O. Hutzinger, J. Chromatogr. 79, 209 (1973).

60. J. F. Lawrence and G. W. Laver, J. Chromatogr. 100, 174 (1974).

61. J. F. Lawrence and R. W. Frei, Anal. Chem. 44, 2046 (1972).

62. R. W. Frei and J. F. Lawrencd, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 55, 1259 (1972).

63. D. J. Pietrzyk and E. P. Chan. anal. Chem. 42, 37 (1970).

64. O. N. Devgan, S. K. Gupta, and M. M. Bokadia, J. Indian Chem. Soc. 42, 395 (1965).

65. T. Nakai, H, Demura, and M. Koyama, J. Chromatogr. 66, 87 (1972).

66. E. Sawicki and R. A. Carnes, Mikrochim. Acta 1967, 148 (1967).

67. M. Guyer and E. Sawicki, Anal. Chim Acta 49, 182 (1970).

68. T. Sekine, K. Ando. M. Machida, and Y. Kanoaka, Anal. Biochem. 48, 557 (1972).

69. T. Amano. Yakugaku Zasshi (J. Pharm. Soc. Jap.) 86, 1 (1966).

70. C. P. Ivanov and Y. Vladovaska-Yukhnovska, Biochem. Biophys. Acta 194, 345 (1969).

71. Z. Deyl. J. Chromatogr. 48, 231 (1970).

72. dL. Edvinsson, R. Hakanson, A. L. Rombery, and F. Sundler, J. Chromatogr. 67, 81 d(1972).

73. L. Edvinsson, R. Hakanson, and F. Sundler, Anal. Biochem. 46. 473 (1972).

74. M. Wiegele, S. L. De Bernardo, J. P. Tengi, and W. Leimgruber, J. Amer. Chem. Soc. 94, 5927 (1972).

75. J. F. Lawrence and R. W. Frei. Chemical Derivatization in Liquid Chromatography. Elsevier, Amsterdam, 1976.

76. R. W. Frei, J. F. Lawrence, J. Hope, and R. M. Cassidy, J. Chrometogr. Sci. 12, 40 (1974).

77. J. F. Lawrence, C. Renault, and R. W. Frei, J. Chromatogr, 121, 343 (1976).

78. J. F. Lawrence and R. Leduc, J. Chromatogr. 152, 507 (1978).

79. J. J. Kirkland, R. F. Holt, and H. L. Pease, J. Agric. Food Chem. 17, 267 (1969).

80. J. F. Lawrence, J. Assoc. Offic. Anal. chem. 59, 1066 (1976).

81. W. P. Cochrane and A. S. Y. Chau. Adv. Chem. Ser. 104, 2 (1971).

82. W. P. Cochrane, J. Chromatogr, Sci. 13, 245 (1975).

83. C. E. Mendoza, P. J. Wales, H. A. McLeod, and W. P. McKinley, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 51, 1095 (1968).

84. R. T. Krzuse, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 55, 1042 (1972).

85. A. S. Y. Chau and W. P. Cochrane, Bull. Environ. Contam. Toxicol, 5, 133 (1970).

86. F. Gunther and R. C. Blinn. J. Agric. Food Chem. 5, 517 (1957).

87. A. S. Y. Chau and W. P. Cochrane, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 52, 1220 (1969).

88. C. W. Bird, R. C. Cookson, and E. Crundwell, J. Chem. Soc. 1961, 4809 (1961).

89. W. W. Weincke and J. A. Burke, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 52, 1277 (1969).

90. A. S. Y. chau and W. P. Cochrane, Bull. Environ. Contam. Toxicol. 5, 435 (1970).

91. J. H. Hammence, P. S. hall, and D. J. Caverley, Analyst 90, 649 (1965).

92. K. Noren, Analyst 93, 39 (1968).

93. A. S. Y. Chau and W. P. Cochrane, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 52, 1092 (1969).

94. W. P. Cochrane and A. S. Y. Chau, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 51, 1267 (1968).

95. W. W. Sans, J. Agric. Food Chem. 15, 192 (1967).

96. J. Singh, Bull. Environ. Contam. toxicol, 4, 77 (1969).

97. W. P. cochrane and A. S. Y. Chau, Chem. Ind. (London) 1968, 1696 (1968).

98. W. P. Cochrane, J. Assoc. Offic. Anal. chem. 52, 1100 (1969).

99. W. P. Cochrane, M. Forbes, and A. S. Y. Chau, J. Assoc. Offic. anal. chem. 53, 769 (1970).

100. B. E. Baker, Bull. Environ. Contam. Toxicol. 10, 279 d(1973).

101. M. Holdrinet, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 57, 580 (1974).

102. W. P. Cochrane and R. B. maybury, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 56, 1324 (1974).

103. G. B. Collins, D. C. Holmes, and M. Wallen, J. chromatogr. 69, 198 (1972).

104. W. P. Cochrane and M. A. Forbes, Methods in Residue Analysis vol. 4 (A. S. Tahori, Ed.). Gordon and Breach, London, 1971, p. 385.

105. S. J. V. Young and J. A. burke, Bul. Environ. Contam. Toxicol. 7, 160 (1972).

106. I. S. Taylor and F. P. Keenan, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 53, 1293 (1970).

107. R. B. Maybury and W. P. Cochrane, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 56, 36 (1973).

108. K. E. Elgar, Advan. Chem. Ser. 104, 151 (1971).

109. D. W. Woodham, C. D. Loftis, and C. W. collier, J. Agric. food chem. 20, 163 (1973).

110. P. Lombardo, K. H. Pomerantz, and I. G. Ergy, J. Agric. Food Chem. 20, 1288 (1972).

111. K. A. Banks and D. D. bills, J. Chromatogr. 33, 450 (1968).

112. W. M. Kaufman, D. D. bills, and E. J. Hannan, J. Agric. Food Chem. 20, 628 (1972).

113. D. E. Glotfelty, Anal. chem. 44, 1250 (19k72).

114. R. G. Nash, M. L. Beall, Jr., and W. G. harris, J. Environ. Quality 1, 391 (1972).

115. A. S. Y. Chau and W. P. Cochrane, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 54 (1971).

116. A. S. Y. Chau, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 55, 519 (1972).

117. A. S. Y. Chau, Bull. environ. Contam. Toxicol. 8, 169 (1972).

118. A. S. Y. Chau and K. Terry, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 55, 1228 (1972).

119. A. S. Y. chau, J. Assoc. Offic. anal. Chem. 55, 1232 (1972).

120. A. S. Y. chau and K. Terry, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 57, 394 (1974).

121. A. S. Y. Chau, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 57, 584 (1974).

122. A. S. Y. Chau and M. Lanouette, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 55, 1058 (1972).

123. P. A. Greve and S. L. Wit, J. Argic. Food Chem. 19, 372 (1971).

124. T. E. Archer, I. K. Nazer, and D. G. Crosby, J. Agric. Food Chem. 20, 954 (1972).

125. E. G. Alley, B. R. Layton, and J. P. Minyard, Jr., J. Agric. Food Chem. 22, 727 (1974).

126. K. V. Scherer, Jr., R. S. Lunt, III, kand G. A. Ungefug, Tetrahedron Lett., 1199 (1965).

127. W. L. dilling, H. P. Broendling, and E. T. McBee, Tetrahedron 23, 1211 (1967).

128. O. W. Berg. P. L. Diosady, and G. A. V. Rees, Bull. Environ. Contam. Toxicol. 7, 338 (1972).

129. J. A. Armour, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 56, 987 (1973).

130. J. N. Huckins, J. E. Swanjson, and D. L. Stalling, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 57, 416 (1974).

131. V. Zitko, O. Hutzinger, and P. M. K. Choi, Bull. Environ. Contam. Toxicol, 12, 649 (1974).

132. J. R. W. Miles, J. Assoc. Offic. anal. Chem. 55, 1039 (1972).

133. R. Gothe, Bull. Environ. Contam. toxicol. 11, 451 (1974).

134. L. E. St. John and D. J. Lisk, J. Agric. Food Chem. 16, 48 (1968).

135. J. Askew, J. H. Ruzicka, and B. B. Wheals, J. Chromatogr. 41, 180 (1969).

136. M. T. dShafik and H. F. enos. J. Agric. Food Chem. 17, 1186 (1969).

137. M. T. Shafik, D. Bradway, and H. F. Enos. Bull. Environ. contam. Toxicol. 6, 55 (1971).

138. F. H. Kawahara, Environ. Sci. Technol. 5, 235 (1971).

139. L. G. Johnson, J. Assoc. kOfficd. Anal. Chem. 56, 1503 (1973).

140. N. K. MoCallum and R. J. Armstrong, J. chromatogr, 78, 303 (1973).

141. I. C. cohen, J. Norcup, J. H. Ruzaicka, and B. B. Wheals, J. chromatogr. 49, 215 (1970).

142. J. N. Seiber, D. G. Crosby, H. Foudam and C. J. Soderquist, J. Chromatogr. 73, 89 (1972).

143. J. A. coburn and A. S. Y. Chau, J. Assoc. Offic, Anal. Chem. 57, 1272 (1974).

144. J. Singh and M. R. Lapointe, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 57, 1285 (1974).

145. M. A. Forbes, B. P. Wilson, R. Greenhalgh, and W. P. cochrane, Bull. environ. Contam. toxicol. 13, 141 (1975).

146. J. F. Lawrence and H. A. McLeod, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 59, 639 (1976).

147. R. Greenhalgh and J. Kovacicova, J. Agric. Food chem. 23, 325 (1975).

148. J. F. Lawrence, unpublished results.

149. J. F. Lawrence and F. Iverson, J. Chromatogr. 103, 341 (1975).

150. G. Yip, J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 54, 343 d(1971).

151. C. E. McKone and R. J. Hance, J. Chromatogr. 69, 393 (1972).

152. H. P. thier, Deútche Lebens,. Rundsch. 68, 397 (1972).

153. H. P. Thier, Angew. chem. 86, 244 (1974).

154. A. S. Y. chau and K. Terry. J. Assoc. Offic. anal. Chem. 59, 633 (1976).

155. W. P. cochrane and R. Greenhalgh, 166th National Meeting of the American Chemical Society, Chicago, 1973.

156. J. F. Lawrence, J. Agric. Food Chem. 22, 936 (1974).

157. E. D. Magallona, Res. Rev. 56, 1 (1975).

158. I. H. williams, Res. Rev. 38, 1 (1971).

159. W. H. Gutenmann and D. J. Lisk, J. Agric. Food Chem. 13, 48 (1965).

160. C. H. Van Middelem, T. L. Norwood, and R. E. Waites, J. Gas Chromatogr. 3, 310 (1965).

161. C. W. Stanley, J. S. Thornton, and D. B. Katague, J. Agric. Food Chem. 20, 1265 (1972).

162. C. W. Stanley and J.. S. Thornton, J. Agric. Food Chem. 20, 1269 (1972)

163. M. C. bowman and M. Beroza, J. Assoc. Offic. Anal. chem. 50, 926 (1967).

164. C. A. bache and D. J. Lisk, J. Gas chromatogr. 6, 301 (1968).

165. J. A. Coburn, B. D. Ripley, and A. S. Y. Chau, J. Assoc. Offic. anal. Chem. 59, 188 (1976).

166. A. H. Blogg and J. L. Rawls, Amer. Lab. 17 (Dec. 1972).

167. E. R. Holden, W. M. Jones, and M. Beroza, J. Agric, Food chem. 17, 56 (1969).

168. E. R. Holden, kJ. Assoc. Offic. Anal. Chem. 56, 713 (1973).

169. D. G. Crosby and J. B. bowers, J. Agric. Food Chem. 16, 839 (1968).

170. R. L. Tilden and C. H. van Middelem, J. Agric. Food Chem. 18, 154 (1970).

171. A. C. Moffat and E. C. Horning. Anal. Lett. 3, 205 (1970).

172. H. Ehrsson and H. Brotell, Acta Pharm. Suecica 8, 591 (1971).

173. S. C. Lau and R. L. marxmiller, J. Agric. Food Chem. 18, 413 (1970).

174. J. N. Seiber, J. Agric. Food Chem. 20, 443 (1972).

175. L. Wong and F. M. fisher, J. Agric. Food Chem. 23, 315 (1975).

176. J. J. Ryan and J. F. Lawrence, J. Chromatogr. 135, 117 (1977).

177. J. F. Lawrence, J. Chromatogr. 123, 287 (1967).

178. J. F. Lawrence and J. J. Ryan, J. Chromatogr. 130, 97 (1977).

179. J. F. Lawrence, D. Lewis, and H. A. McLeod, J. Chromatogr. 138, 143 (1977).

180. L. Fishbein and W. L. Zielinski, Jr., J. Chromatogr. 20, 9 (1965).

181. J. F. Lawrence, J. Agric. Food Chem. 24, 1236 (1976).

182. F. S. Tanaka and R. G. Wien, J. Chromatogr. 87, 85 (1973).

183. J. F. Lawrence and G. W. Laver, J. Agric. Food chem. 23, 1106 (1975)

184. J. F. Lawrence, D. Lewis, and H. A. McLeod. J. Agric. Food Chem. 25, 1359 (1977).

الفصل الثامن والعشرون

الطرق البولاروجرافية « الاستقطاب » والطرق المرتبطة بها

Polarography and Related Methods

* مقدمة Introduction :

الطرق البولاروجرافية التى اكتشفت بواسطة العالم J. Heyrovsky الحائز على جائزة نوبل اصبحت من الوسائل الهامة فى الكيمياء التحليلية والطبيعية وتحتل اليوم جانبا هاما فى البحوث الخاصة بالتحليل . من هذه الطريقة اشتقت طرق عديدة كيميائية كهربية والاجهزة الحالية اصبحت متقدمة للغاية . تستخدم طـرق قياس الاستقطاب فى الكيمياء الصيدلانية والكيمياء الحيوية . اما إستخدامها فى تحليل المبيدات غير شائع لذلك لن اخوض فيها بالتفصيل . طريقة البولاروجرافى كما عرضها مكتشفها تعنى الطريقة التى تستغل منحنيات التيار - الفولت الناتجة من التحليل الكهربى للمحاليل مع الكترود تنقيط الزئبق . بعض البحاث قوموا الكترودات صلبة (٤) ثابتة أو مهتزة أو دورانية ، وفى هذه الحالة تسمى الطريقة الفولتمترية Voltametric . عادة نشاط المواد الاستقطابى بينى ويعتمد على اساس قابلية المادة للاختزال او الاكسدة عند الالكترود الكاشف بحيث يأخذ او يفقد الالكترونات . اما تركيز المادة يمثل او يتحصل عليه من قيمة التيار المحدود وهو بالتالى من احد وظائف او بسبب عدد من الالكترونات المشتركة فى عملية تجهيز الالكترود . فى معظم الحالات التى تستخدم فيها القياسات البولاروجرافية فان إنتقال الكتلة للمادة محل التقدير يتوقف على أو يتحكم فيها بواسطة الانتشار من الكتلة تجاه الكترود الزئبق النامى . ومن ثم تجهيز الالكترود يمكنه ان يتعقد من خلال الادمصاص او اى تفاعلات كيميائية . اما فى حالة الالكترود الصلب الدوار يتوقف انتقال الكتلة ويتأثر بالتوصيل .·التقدير وحساب تركيز المواد بطرق الاستقطاع البولاروجرافية أو الفولتامترية تجرى بمساعدة وقياسية المحاليل القياسية . التيار لمتحكم فى إنتشاره المحدود Id فى البولاروجرافى ذو التيار المتقطع dc يمكن الحصول عليه من معادلة Ickovid حيث :

$$Id. = 10^{-3} \times 0.627\ nfm\ 2/3t\ 1/6\ D\ \ 1/2\ C$$

حيث ان n = عدد الالكترونات التى تتبادل بين الجسيمات النشطة كهربيا والالكترود ، F = ثابت فارادای (٢٩٦,٥٠٠) ، m = سرعة الانسياب الخارج للزئبق من الالكتـــرود شعرى t، = الوقت المستـقطع بالثوانى ، D = معـامل الانتـشـار ، c = تركـيـز المادة (مول/لتر) .

K. G,. Das
national Chemical laboratory
Poona, India.

التقديرات الوصفية تعتمد على نصف الجهد E 1/2 (فى منحنيات البولاروجرافى I- E) وكذلك قيمة الجهد Ep التى يتحصل عليها من الالكترودات الثابتة . هذه القيم تعتبر من الخصائص المميزة للمركب . الطرق البولاروجرافية الفولتامترية يمكن ان تستخدم لدراسة التركيب والثبات والثوابت . يستخدم البولاروجرافى المستمر التيار فى تقدير المركبات العضوية .

*** ظروف التقدير البولاروجرافى والفولتا مترى Conditions :**

يمثل اجراء هذه التقديرات لابد من وجود مجموعة مختزلة أو مؤكسدة فى المركب من المجاميع الفعالة فى المبيدات التى تحلل بطريقة البولاروجرافى موجودة فى الجدول التالى (١) وهناك قواعد عامة يمكن ان نشير اليها مثل : الرابطة الفردية ك – ك ن لا تعطى استجابة متماثلة عند كل مرة تقدير فى نطاق الجهد الحادث عن الكترود الزئبق . هناك استثناء من هذه القاعدة رابطة ك – ك ن . اذا نشطت بمجموعة جاذبة للالكترونات مثل ٤ – سيانوبيريدين او ٢,١ – داى سيانو بنزين . هذا قد يؤدى الى فصل ٢ الكترون من الرابطة معطية (ك ن⁻) او تكوين – ك يد ٢ن يد٢ . هذا السلوك يعتمد على قابلية البروتون فى المحلول القاعدى . الرابطة الزوجية ك = ك لا تختزل فى نطاق الجهد عند الكترودات الزئبق ولكن الاختزال يحدث اسهل بالتفاعل مع مواد جاذبة للالكترونات . الكينونات تختزل أكثر عند الجهد السالب بدرجة تفوق الالدهيدات تحول مجموعة الامينو فى الوضع « الفا » يسهل الاختزال وعندما تحول مجموعة الايدروكسيل تسبق مقدرتها الاختزالية واختزال مجموعة الكربونيل ونفس الشئ يحدث مع الثيونات .

مجموعة النيترو المرتبطة غالبا بحلقة عطرية تختزل فى اربع خطوات معطية فينيل هيدروكسيل امين وفى النهاية مجموعة امين من الصورة البروتونية . مجموعة ك = ن من اكثر المجاميع فى التحليل البولاروجرافى .

فى تحليل المبيدات بالطرق البولاروجرافية نادرا ما يشار الى استخدام الالكترودات الصلبة . من اهم العوامل المحددة ظهور موجات انودية بسبب التفرق الانودى لأيونات الزئبق فى المحلول المحتوى على مواد تتفاعل معها لتكوين املاح غير ذائبة او معقدات او غير مرتبطة . هذه هى الحالة مع الكلوريدات او البروميدات فى الكيمياء الغير عضوية خاصة مع المواد التى تحتوى على مجموع الفيدرين وهذه شائعة فى تركيب المبيدات .

جدول (١) : امثلة للمجموعات النشطة الحساسة للكشف البولاروجرافى فى المبيدات .

Reversible group	Assumed mechanism	Example
1, 4-Benzoquinones	$R + 2e + 2H+ \quad RH_2$	Spergon
Irreversible		
-C=C-	$+ e + H+ \rightarrow RH$	Potasan
Activated	dimer formation	
C-x related compounds	$RX + 2e + 2H+ \rightarrow RH2$	DDT, hexachlorohexane, and
;C-NO2	$RNO2 + 4e + 4H+ \rightarrow R.NHOH$	Parathion
-C=N-	$+ 2e + 2H+ \rightarrow CH-NH$	Guthion
Mostly in a heterocyclic ring		
R-S-S-R	$+ 2e + 2H+ \rightarrow 2R-SH$	Tetramethylthiuramidisulfide
R-SH	$+ Hg \rightarrow RSHg + e + H+$	Ethylenebisthiocarbamate

* **الطرق البولاروجرافية الغير مباشرة :**

بالرغم من مميزات هذا التكنيك الا انه غير شائع لأن جزء من المركبات العضوية فقط ذات نشاط استقطاب وهذا يفسر سبب استخدام البولاروجرافى الغير مباشر . اذا استبعدنا ما يسمى بالطرق الامبيرومترية يمكن تقسيم هذه الطرق الى اربعة طرق تستخدم فى تحليل المبيدات والكشف عليها :

١ – ادخال مجموعة بولاروجرافية او فولتامترية فى الجزئ ويطلق عليها Functionalization مثل مجموعة النيترو .

٢ – اكسدة المادة محل التقدير والكشف عن ناتج التأكسد .

٣ – تفاعل المركب مع جوهر كشاف الذى يتحول الى مركب نشط بولاروجرافيا .

٤ – الاستفادة من الفصل المساعد للايونات الايدروجينية المختزلة الناتجة من المادة محل التقدير .

الجدول (٢) يوضح امثلة للتفاعلات المستخدمة فى البولاروجرافى الغير مباشرة الخاص بمبيدات الافات تشمل النترتة وادخال مجموعة النيتروزو والتحليل المائى القلوى والتفاعل مع جواهر كشافة تعطى مركب نشط الكترونيا كما فى الورفارين او وقت التفاعل الانزيمى .

جدول (٢) : تفاعلات التقديرات البولاروجرافية الغير مباشرة للمبيدات

A. Nitration
Carbaryl CARBARYL - NO2

B. Nitrosation
Carbaryl - NO2

C. Alkaline hydrolsis
Malathion OH- sodium fumarate
Dalapon CH_3-CCl_2-COONa → CH_3COCOONa
sodium pyruvate

D. Reaction with a reagent giving rise to an electroactive product
Warfarin + I_2 → iodoform

E. Blocking of an enzymatic reaction
Maltathion (organophosphate insecticide) inhibits the serum esterase influence on

a-Naphthylacetate → B-naphthol
↓ nitrosation
polarogrlaphic determination

* الاجهزة والمذيبات **Instrumentation and Solvents** :

فى ١٠ سنوات مضت كانت القياسات البولاروجرافية تجرى باجهزة الإستقطاب التجارية ذات التيار المتقطع de polarographs حيث كانت تستخدم وتعتمد على ٢ الكترود بالإضافة الى ذلك كانت توجد اجهزة اخرى للإستقطاب Oscillo polarographs والعديد من البولاروجرافى وحيدة الالكترود single sweep . لقد تركزت البحوث فى هذا المجال فى البحث عن اجهزة سهلة وبسيطة يمكن للباحث ان يكونها فى المعمل . اما الآن اختفت هذه الاجتهادات تماما حيث طورت اجهزة تسجل البولاروجرام المتقطع dc مع ٣ نظم للإلكترود فيما يعرف بالاستقطاب المستمر ac والفولتاموجرام مع معدلات رصد مختلفة والفولتاموجرام الحلقى cyclic وبالطبع هناك انواع عديدة من الالكترودات الكشافة ... كما قلت سابقا لن اخوض فى التفصيلات لأننى غير متقن لها .

من الامور المحددة لنجاح التقدير بطرق الاستقطاب هو اختيار المذيب المناسب حيث ان معظم المبيدات لا تذوب فى الماء او تذوب بدرجة بسيطة فى الماء ولهذا السبب يجب استخدام مذيب غير مائى مثل ن ر ن – دايمثيل فورماميد او الايثانول . هناك احتمالات الاول يتمثل فى العمل فى غياب الماء تحت ظروف aprotic مع وجود ملح التترا الكيل أمونيوم او الليثيوم كوسط الكتروليتى مدعم او مخلوط من الماء ومذيب مساعد بتركيز عالى بما يكفى لاذابة المادة محل التقدير . هناك صعوبات كبيرة فى حالة استعمال الاوساط المائية ، اما المذيبات اللامائية بها عيوب كثيرة ايضا من اهمها ضعف التوصيل الكهربى فى المحلول الناتج كما تتطلب العمل بدوائر بها ٣ الكترود . فى الاستقطاب العادى بالنبضات pulse نحتاج لتركيزات بسيطة من الوسط الالكتروليتى المدعم .

* **مشاكل الفصل والمعاملات المسبقة للقياسية**

Separation problems and pretreatment of sample

لا جدال فى أن تقدير المواد النقية من السهولة بمكان اما الصعوبات تحدث عند تقدير مخلوط من مبيدين او اكثر او وجود مخلفات المبيدات فى مواد بيولوجية . تتأتى المشاكل من احتمالات حدوث تداخل من المواد الحيوية مثل البروتينات التى تساعد فى اختزال الايدروجين والفيتامينات خاصة تلك التى لها نشاط كهربى مثل ن ٢ ، ن ٦ ، جـ ، ك أو الالكالويدز التى تساعد على إنطلاق الايدروجين والسكريات التى تعطى موجات سالبة وقليلة وحركية وربما الكلوروفيل . يمكن فصل المركبين والكشف عنهما اذا كان نصف موجة الجهد E ١/٢ لهما يختلفان باكثر من ١٠٠ ملليفولت فى البولاروجرافى المتقطع . اذا لم يكن ذلك متاحا تجرى معاملات قبل التقدير مثل استخلاص المادة من العينة بواسطة مذيب عضوى ويتبع الاستخلاص تنقية المستخلص . الآن يعتبر الفصل بالـ TLC أو HPLC متبوعا بالقياس باجهزة الاستقطاب شائعا فى الادوية ولكنه لم يجد طريقه بالشكل الكبير مع المبيدات .

جدول (٣) : نصف الجهد الموجى لبعض المبيدات المحتوية على مجموعة النيترو .

Substance	0.1 N HNO3	O.1 N acetate buffer	O.1 N ammonia/ ammonium chloride	0.1 N NaOH
1 - Nitrol-2,3,5,6-tetrachlorobenzene (Tecnazine)	-0.18	-0.58	-0.70	-0.81
1 - Nitrol-2,3,5,6-pentachlorobenzene (Brassicol)	-0.17	-0.51	-0.71	-0.90
1-Thiocyano-2,4-jdinitrobenzene (Nirit)	-0.05, -0.31	-0.26, -0.67	-0.43, -0.83	---
Crotonic acid ester of 2-4-dinitro-6-sec-octylphenol (Karathane)	-0.12, -0.31	-0.39 , -0.67	-0.52, (-0.78)	-1.08 (-1.56)
1,3,5-trichloro-2, 4-dinitrobenzene (Brassisan)	-0.05 , -0.33	-0.29 , -0.72	-0.41 , -0.85	---
1,3,5-Trichloro-2,4,6-trinitrobenzene (bulbosan)	-0.10 , (-0.35)	-0.18 , -0.72	---	-1.30
Parathion	-0.26 , (-0.86)	-0.62 0.62	0.74	-0.80, (-1.26)

Substance	0.1 N HNO3	O.1 N acetate buffer	O.1 N ammonia/ ammonium chloride	0.1 N NaOH
Chlorthion	-0.20	-0.56	-0.72	---
Isochlorthion	-0.20	-0.55	-0.64	-0.80
p-Nitrophenol	-0.09 , (-.98)	-0.84	-1.02	-0.80 , -1.34

جدول (٤) : نصف الجهد الموجى لبعض كاتيونات بايبريديوم الرباعية

	pH	E1/2 (vs. SCE)
Parquat	8.3	-0.69 V
Diquat		-0.61 V
Morfamquat		-0.54 V

لست فى مجال سرد امثلة لتقدير المبيدات بالطرق البولاروجرافية .. على من يريد مزيد من المعلومات ان يرجع الى القائمة الموجودة فى هذا الجزء بالاضافة الى اربعة مراجع هامة جدا للكشف عن المبيدات المحتوية على الثيويوريا والباراثيون والمبيدات المحتوية على النيترو وكذلك مركبات اكسيد الفينيل ارسين والباراكوات فى البول وسيرم الدم .

1. Thiourea-containing pesticides: M. R. Smyth and J. G. Osteryoung, anal. Chem. 49, 2310 (1977). In 0.1 M NaOH the lower concentration limit lies in the region of 10^{-7} M concentrations. With cathodic stripping voltammetry at a HMDE concentrations down to 1 μg ml^{-1} can be determined.

2. Parathion and other nitro-containing pesticides: M. R. Smyth and J. G. Osteryoung, Anal. Chím. Acta 96, 335 (1978). These substances can be determined down to 10^{-8} M. In acid solution parathion can be differentiated from p-nitrophenol. An indirect determination of parathion in presence of paraoxon is based on their respective reates of hydrolysis in 0.5 M NaOH.

3. Phenylarsine oxide: J. H. Lowry, R. B. Smart, and K. H. Maney: anal. Chem. 50, 1303 (1978). the detection limit is 10^{-8} M at pH 7.3 in aqueous solutions.

4. Paraquat in urine and serum: G. Franke, W. Pietrulla, and k. Preussner, Fresenius Z. Anal. Chem. 298, 38 (1979). In a NH_3-NH_4Cl buffer the lower detection limit is about 0.05 μg/ml (i..e., 5.10^{-6} M). The determination is direct; for urine pH 7 and for human serum pH 6.5^{-8} are recommended.

References

1. J. Heyrovsky´ and J. Kuta, Principles of Polarography. Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague, 1965.

2. M. Brezina and P. Zuman, Polarography in Medicine, Biochemistry and Pharmacy. Intersicience, New York, 1958.

3. P. Nangniot, La polarographie en agronomie et en biologie. J. Duculot, Gembloux, 1970.

4. R. N. Adams, Electrochemistry at Solid Electrodes. Marcel Dekker, New York, 1969.

5. L. Meites, Polarographic Techniques, 2nd ed. interscience, New York, 1965.

6. prosspectus, Tokai Elctrode Mfg. Co., Ltd., Tokyo, Japan.

7. D. T. Sawyer and J. L. Roberts, Jr., Experimental Electrochemistry for Chemists. Wiley, New York, 1974.

8. F. Vydra, K. Stulik, and E. Juláková, Electrochemical Stripping Analysis. Ellis Horwood, Ltd., Chichester, 1976.

9. Z. Galus, Fundamentals of Electorchemical Analysis. Ellis Horwood. Ltd., chichester, 1977.

10. Prospectus, Princeton Applied Research, Inc., Princeton, N. J.

11. F. Opekar and P. Beran, J. elecltroanal. Chem. 69, 1 (1976).

12. J. Volke and A. M. Kardos, Coll. Czech. Chem. Commun. 38, 2560 (1968).

13. Yu. Kargin, O. Manousek, and P. Zuman, J. Electroanal. Chem. 12, 443 (1966).

14. P. Zuman, D. Barnes, and A. Ryvolová-kejharová, Discussions Faraday Soc. 45, 202 (1968).

15. M. R. Rifi, in Organic Electrochemistry (M. M. Baizer, Ed.). Marcel Dekker, New York, 1973, p. 279.

16. L. Eberson, in Organic Electrochemistry (M. M. Baizer, Ed.). Marcel Dekker, dNew York, 1973, p. 413.

17. H. Lund, in Organic Electlrochemistry (M. M. Baizer, Ed.). marcel Dekker, New York, 1973 p. 315.

18. J. Volke, Talanta 12, 1081 (1965).

19. J. Volke, in Physical Methods in Heterocyclic Chemistry, Vol. 1, (A. R. Katritzky, Ed.). Academic Press, New York, 1963, p. 317.

20. M. Brezina and J. kVolke, in Polarography in Biochemistry, Pharmacology and Toxicology, Progrees in Medicinal Chemistry, Vol. 12 (G. P. Ellis and G. B. West, Eds.). North-Holland, Amsterdam, 1975. p. 247.

21. H. Hoffmann and J. Volke, in Electroanalytical Chemistry (H. W. Nürnberg, Ed.). Wiley, London, 1974, p. 287.

22. R. Engst. W. Schnack, and H. Woggon, Z. Anal. Chem. 207, 30 (1965).

23. R. J. Gajan, W. R. Benson, and J. M. Finocchiaro, J. Assoc. Offic. Agric. Chem. 48, 958 (1965).

24. K. Dulak, J. Kovác, and M. Michalek, Z. Anal. Chem. 195, 350 (1963).

25. S. Wawzonek, and T. W. Mclnytre, J. electroanal. Chem. 12, 544 (1966).

26. J. Kovác, Chem. Zvesti 8, 342 (1954).

27. J. Seifert and J. Davidek, Z. Lebensmittel-Untersuchung 146, 17 (1971).

28. H. Lund, Acta Chim. Scand. 12, 1444 (1985).

29. P. Nangniot and N. Melarned, Chim. Anal. 40, 3 (1958).

30. P. Nangniot, Anal. Chim. Acta 31, 166 d(1966).

31. H. Sohr, Chem. Zvesti 16, 316 (1962).

32. R. Kalvoda, Techniques of Oscillographic Polarography, 2nd ed., Elsevier, Amsterdam-SNTL, Prague, 1965.

33. P. Nangniot, La polarographie en agronomie et en biologie, J. Duculot, Gembloux, 1970, p. 287.

34. Z. Galus, in Reviews on Analytical Chemistry (Euroanalysis Conference II) (W. Fresenius, Ed.). Akadémiai Kiadó, Budapest, 1977, p. 53.

35. G. Dragt, Anal. Chem. 20, 737 (1948).

36. D. Monnier, L. Roesgen, and R. Monnier, Anal. Chim. Acta 4, 309 (1950).

37. L. Contier, H. André, and J. Prat, Chim. anal. 31, 201 (1949).

38. H. Keller, M. Hochweberd, and H. v. Halban, Helv. Chim. Acta 29, 761 (1946).

39. J. Davidek and G. Janicek, Experientia 17, 473 (1961).

40. R. J. Gajan and J. Link, J. Assoc. Offic. Agric. Chem. 47, 1119 (1964).

41. K. Neuhaus, Chem. z. 80, 861 (1956).

42. O. A. Swanepoel, J. South-African Chem. Inst. 15, 88 (1962).

43. M. H. Hayes, M. Stacey, and J. M. Thompson, Chem. and Ind. 1222 (1967).

44. D. E. Ott, F. E. Hearth, and F. A. Gunther, Bull. Environ. contam. Toxicol. 1, 181 (1966).

45. D. K. Gullstrom and H. P. Burchfield, Anal. Chem. 20, 1174 (1948).

46. A. K. Klein and R. J. Gajan, J. Assoc. Offic. Agric. Chem. 44, 712 (1961).

47. J. Vogel and J. Deshusses, Mitt. Ges. Lebensmittel Hygien. 55, 151 (1964).

48. N. C. Bowen and F. F. Edwards, Anal. Chem. 22, 706 (1950).

49. E. Sandi, Nature 181, 499 (1958).

50. D. E. Ott an F. A. Gunther, Analyst 87, 70 (1962).

51. F. E. Hearth, D. E. Ott, and F. A. Gunther, J. Assoc. Offic. anal. Chem. 51, 690 (1968).

52. P. Nangniot, La polarographie en agronomie et en biologie, J. Duculot, Gembloux, 1970, p. 270.

53. P. Nangniot, La polarographie en agronomie et en biologie, J. Duculot, Gembloux, 1970, p. 259.

54. J. Kovác, Chem. Zvesti 8, 272 (1954).

55. W. H. Jura, Anal. Chem. 27, 525 (1955).

56. F. Tafuri, Ric. Sci. 32, Ser. 2, II-B, p. 60 (1962).

57. H. Woggon, H. Ackermann, and D. Spranger, Z. Anal. Chem. 211, 113 (19k65).

58. J. Volke and V. volková, Coll. Czech. Chem. Commun. 34, 2037 (1969).

59. J. Volke, Coll. Czech. Chem. Commun. 33, 3044 (1968).

60. L. Pospisil, J. Kuta, and J. Volke, J. Electroanal. Chem. 58, 217 (1975).

61. J. Volke and O. Manousek, unpublished results.

62. P. Nangniot, La polarographie en agronomie et en biologie, J. Duculot, Gembloux, 1970, p. 241.

** الفصل والتقدير بالكروماتوجرافى :

اصبح الفصل الكروماتوجرافى ذو اهمية كبيرة فى تحليل المبيدات والكشف عن المخلفات مهما كانت قيمتها حتى المتناهية فى الصغر بسبب سرعة العمل بها ودقتها وصلاحيتها لجميع انواع المبيدات وغيرها من الكيميائيات والتطور المذهل الذى يحدث فى اجهزتها ووسائل تطبيقها كما انها تفيد فى عمليات تنظيف العينات . بالرغم من التقدم المذهل فى انواع واساليب الكروماتوجرافى تظل الاساسيات هى الاساسيات ، على كل مشتغل فى هذا المجال ان يكون على دراية تامة بالاصطلاحات والاسس العلمية لذلك كان ضروريا ان نشير الى هذه المصطلحات والتى وجدتها مجمعة فى مذكرة تدريسية منذ عام ١٩٧١ لاستاذى العظيم رحمه الله المرحوم « أ . د . جمال طنطاوى » استاذ المبيدات بكلية الزراعة جامعة الاسكندرية حيث كان لى شرف المنهل من علم اساتذتى فى قسم وقاية النبات العريق بهذه الكلية العريقة .

١ – التحليل الكروماتوجرافى Chromatography :

يعنى فصل المركب المراد الكشف عنه من غيره من المركبات والشوائب بحيث تظهر المركبات فى مواضع مختلفة على خريطة الفصل او ما يعرف بالكروماتوجرام بصرف النظر عن القوى التى تحكم عملية الفصل . التحليل الكروماتوجرافى لا يحدد نوع المركب المفصول فقط ولكن تركيزه كذلك ويمكن التأكيد من نتيجة الفصل من خلال المركبات القياسية Standards .

٢ – التحليل الكروماتوجرافى بالورق Paper chromatography :

يستخدم فيها ورق ترشيح بمواصفات خاصة اى ذو حساسية معينة لفصل المركب عما يوجد معه من شوائب او مركبات اخرى حيث تستغل خاصية اختلاف الوزن الجزيئى وذوبانية المركبات فى الفصل بينهما حيث يتحرك كل مركب لمسافة معينة على الورقة بالنسبة للمركب القياسى .

٣ – التحليل الكروماتوجرافى باعمدة الادمصاص

Adsorption chromatography :

حيث يستخدم اعمدة بها مواد ذات قدرة ادمصاصية اما على مسك المبيد او مسك الشوائب وترك المبيد ينزاح على مذيب عضوى او مخلوط من عدة مذيبات ثم التقدير . تفيد هذه الطريقة فى تنقية العينات والفصل النوعى والكمى للمبيدات .

٤ – التحليل الكروماتوجرافى عن طريق تبادل الايونات Ion exchange :

هى طريقة فعالة لا تستخدم بكثرة فى مجال الكشف عن مخلفات المبيدات حيث تستخدم مواد راتنجية ذات طبيعة ومقدرة خاصة على تبادل الايونات وهى تقارب لحد كبير اعمدة الادمصاص وهى شائعة فى فصل الاحماض الامينية وغيرها .

٥ – التحليل الكروماتوجرافى الغازى Gas chromatography :

من اكثر الطرق شيوعا للكشف عن مخلفات المبيدات واختبارات الجودة بسبب سرعتها وحساسيتها الفائقة حيث تعرض المادة المراد تقديرها لدرجة حرارة عالية فى قالب الحقن بحيث لا تتكسر ولكنها تتحول الى الصورة الغازية التى تحمل مع الغاز الحامل وهو خامل مثل النيتروجين او الهيليوم وتخرج الى فتحة العمود الموجود به مادة ادمصاص معينة حسب نوع المركب وطبيعته بحيث يتم توزيع المركب بين الطور المتحرك (الغاز) والثابت اى مادة الادمصاص ومنها الى الكشاف الحرارى باللهب او صائد الالكترونات وغيرها حيث يتم الكشف عنها ثم ترسل اشارة الى وحدة المسجل حيث يتم التعبير عنها فى صورة منحنيات .

٦ – المذيب Solvent :

من اهم العوامل التى تحدد سلامة ودقة وصلاحية الفصل وقد يستخدم مذيب واحد او مخلوط من اكثر من مذيب وعدم التوفيق فى الإختيار يؤدى الى نقص معدل الاسترجاع وكفاءة العملية والبعض يطلق على المذيب الاصطلاح الناشر Developer .

٧ – نظام المذيبات Solvent system :

يعنى مخلوط المذيبات ونسب مكوناته والاجتهاد مطلوب فى هذا الخصوص بشرط التجريب والاحتكام لمعدلات الاسترجاع من الوسط .

٨ – الصورة او الوسط الثابت Stationary phase :

تمثل طبقة السليكا جيل فى الفصل الكروماتوجرافى بالالواح TLC او مادة العمود فى الفصل الكروماتوجرافى الغازى وغيره او ورقة الترشيح فى الكروماتوجرافى الورقى ويؤدى عدم التوفيق فى اختيار المادة الى نقص كفاءة التحليل والفصل بدرجة شديدة .

٩ – الصورة المتحركة Mobile phase :

تمثل المذيب فى الفصل بالسوائل او بالورق او بالاعمدة الكروماتوجرافية او الغاز الخامل فى الكروماتوجرافى الغازى ولا بد ان تكون درجة النقاوة عالية جدا منعا لتداخل الشوائب مع المبيد .

١٠ – الكروماتوجرافى المعكوس Reversed/Inverted Chromatography :

حيث تكون الصورة معكوسة عن المألوف بمعنى ان تكون الصورة الثابتة محبة للدهون والمتحركة محبة للماء كما فى حالة الفصل المستخدم فيها ورق الترشيح المضاف له مجموعة خلات ويسمى Acetylated paper .

١١- عملية الفصل الكروماتوجرافى Development :

اى فصل المبيد من الشوائب او المبيدات الاخرى باى من الطرق الكروماتوجرافية السابقة تحت الظروف القياسية لكل مركب او مجموعة من المركبات وليكن معلوما ان اهمال شروط اى عامل يؤدى الى فشل الفصل .

١٢ - كابينة الفصل Development vessel :

يطلق عليها حجرة الفصل والتى يجب تهيئتها قبل عملية الفصل والتأكد من وصولها لحالة الاتزان والتشبع فى بعض الاحيان حتى يكون الفصل تاما وسليماً لأن اى تسريب يعنى عدم اتزان يؤدى لفشل ذريع . يجب أن تصنع من مواد لا تصدأ ولا تتفاعل مع نظم المذيبات .

١٣- خط حدود المذيب Solvent front :

الخط الذى يصل اليه المذيب فى الفصل الكروماتوجرافى الورقى او الالواح المغطاة TLC وعدم الدقة فى تحديده يؤدى الى الحصول على قيم انسياب RF خاطئة ومن ثم تعريف خاطئ ومشاكل لا حصر لها . هناك خط المذيب الخاص بالمركب اى المسافة التى تحركها بالمذيب .

١٤ - قيمة معدل الانسياب RF :

هى النسبة بين المسافة التى تحرك فيها المركب الى المسافة التى تحركها المذيب « خط الحدود » وترجمة الاصطلاح معدل الإنسياب "Rate of flow" .

١٥ - HRF value :

هى قيمة نسبية تماثل ١٠٠ ضعف قيمة معدل الانسياب RF وهى تستخدم فى كروماتوجرافى الألواح .

١٦ - Rst Value :

تمثل النسبة بين مسافة حركة المادة بالنسبة لمسافة حركة المادة القياسية وهى معيار هام وفعال يمكن من خلاله التغلب على الاختلاف فى ظروف الفصل .

١٧ - التدريج Gradient :

تعنى التغير المستمر لعامل او عدة عوامل من تلك التى تؤثر على نسبة معدل الانسياب (فى اتجاه واحد) مثل تغير المذيب وتأثير الحموضة أو الحرارة ... الخ .

١٨ - الكشف Detection :

يعنى اظهار المركب بعد الفصل او تقديره مثل تكوين البقع او اظهارها بالاشعة فوق البنفسجية او تقديرها بالكاشفات الماصة للهب او مصائد الالكترونات .

١٩ - الكروماتوجراف المرشد Guide chromatogram :

هو جزء من الكروماتوجرام (منحنيات الفصل) يستخدم لتحديد مكان البقع التى لم تلون او تظهر وهو يستخدم فى الكروماتوجرافى الورقى واللوحى .

٢٠ - كروماتوجرام الشرائح Strip chromatogram :

يمكن فصل المركب من الشوائب او من المركبات الاخرى باستخدام شرائط من ورق الترشيح ذات عرض معين ويكون الفصل من اعلى لأسفل descending .

٢١ - كروماتوجرام الخطوط أو المناطق Stream chromatogram :

هى الكروماتوجرامات التى تظهر على مسافة من خط البداية فى صورة مناطق او حزم مفصولة عن بعضها كما فى الفصل الالكتروفوريسيز .

٢٢ - فترة الاتزان بالتشبع Equilibration saturation period :

تهيئة كابينة الفصل بوضع المذيب فيها واحكام غلقها حتى يحدث التشبع وهى فى غاية الاهمية لان عدم التشبع او الاتزان يؤدى الى خلل الفصل .

٢٣ - فترة الفصل الكروماتوجرافى Development time :

يسمى ايضا فترة إجراء العملية Running time ولا يشمل فترة الاتزان ولكنها الفترة من بدء عملية الفصل حتى نزع الكروماتوجرام للتجفيف والكشف .

٢٤ - المواد القياسية Reference standards :

هى المواد القياسية التى يجب الحصول عليها من مصدر موثوق فيه كما تكون مخزنة تحت ظروف قياسية وتختبر قبل العمل بها منعا لأية شكوك ومنها :

(أ) مواد قياسية للفصل الكمى .

(ب) مواد تجارية للتعرف على البقع .

(جـ) مادة معينة لتقدير معيار "Rst" قد شاع فى الوقت الحالى الاعتماد على المواد القياسية الداخلية Internal standard حيث تخلط مع العينة محل التقدير للتأكد من سلامة الفصل وتنسب الى المادةالاصلية ويكون المعيار الكمى هو النسبة بينها وبين مادة التقدير .

الفصل التاسع والعشرون

طرق عامة لتعريف مخلفات المبيدات في عينات غير معلومة المصدر (الاصل)

General approaches to the identification of pesticide residues in samples of unknown origin

يتطلب التحكم الشديد فى مخلفات مبيدات الآفات فى العينات مجهولة الاصل خبرات فائقة فى التحليل والكفاءة . نظرا لوجود عدد كبير جدا من المواد الفعالة فى الاسواق فمن الضرورى توجيه التحليل لتقدير مخلفات المبيدات المؤكد وجودها او المشكوك فى تواجدها فى المواد الغذائية . هناك الحاجة للتعاون الدولى فى مجال المعلومات الخاصة بمخلفات المبيدات فى السلع التجارية وهذا يستدعى توفر طرق للكشف عن العديد من المخلفات تمتاز بالتخصص بالاضافة لطرق الغربلة البسيطة .

مقدمة Introduction :

من النادر عدم معرفة بلد المنشأ لأية سلعة متوفرة تجاريا على المستوى العالمى ومن الممكن ان يكون المنتج مجهول الهوية . قد تتواجد مواد غذائية مصنعة ومخلوطة دون اية معلومات عن المبيدات المستخدمة والمواد الخام . فى العادة تقع مشاكل التحليل الخاصة بمخلفات المبيدات فى مجموعتين بناء على تبعيتها للسلع المحلية أو المستوردة . فى حالة العينات المحلية فانه عادة وبدون معنى توجه كافة الجهود تجاه المبيدات المعروف صلاحية او القيود على استخدامها . تعتبر سجلات المبيعات كوثائق هامة فى تحديد شيوع مبيدات الآفات . بالنسبة للسلع الغذائية المستوردة تكون المعلومات المتوفرة عن استخدام مبيدات الآفات نادرة بالرغم من توفر قوائم للمبيدات المسجلة فى مناطق الانتاج بشكل عادى وروتينى . نقرر حقيقة أن اية معلومات متاحة عن تاريخ العينات سوف تقلل من عدد مرات التحليل المطلوب. فى الوقت الحالى فان البيانات التى تساعد فى اختبار المخلفات التى يشملها التحليل يمكن الحصول عليها من سلسلة الدوريات المعروفة " Good agricultural practice" التى تعدها الحكومة الكندية من خلال قائمة الحدود القصوى للمخلفات MRL's الموصى بها من قبل هيئات CC/PR وكذلك من نشرات سلسلة Evalua-tion of pesticide residues in Food لهيئة دستور مخلفات المبيدات .

الكم الضخم من بيانات التحليل التى جمعت من معمل الخدمات تمثل عصب الجدول رقم (١) موضحا السلع الغذائية الشائعة ومخلفات المبيدات فيها . هناك ضرورة لجداول مقارنة تحتوى على العديد من التفاصيل للتخطيط لتحليل المخلفات ، هذه الاحصائيات لا تؤكد اى شئ عن تحليل المخلفات الاخرى . تعتمد طرق التحليل التى ستتبع على الاجهزة والامكانيات المتوفرة وكذلك على نوع السلعة الغذائية والمركبات مجال التحليل . فى حالة عدم توفر الاجهزة المتطورة والغالية السعر يجب اللجوء الى الطرق البسيطة قليلة التكلفة وتطويرها لتقدير مخلفات المبيدات بنجاح . ولقد نشر الباحث Batora ومعاونوه تجميعه لطرق التحليل البسيطة للمخلفات .

جدول (١) : بعض السلع الغذائية ومخلفات المبيدات فى النطاق التجارى .

++ = مخلفات غالبا موجودة بكميات عالية

+ = مخلفات غالبا موجودة

(ــ) = مخلفات موجودة بصورة عرضية .

	benomyl	EBDTC 's	other fungicides	OC- compounds [a]	OP- compounds [b]	other insecticides	bromine	others
carrot	-	-	+	+	+	+	-	tecnazene
red beet	-	-	+	-	+	+	-	
celery cabbage	+	+	+	+	+	+	++	
lettuce	+	++	+	+	+	-	++	
cabbage	-	+	-	-	-	-	-	
cauliflower	-	+	+	+	+	-	-	
peas	-	-	-	-	-	-	+	
cucumber	-	++	+	+	+	+	-	
tomatoe	+	++	+	+	+	+	++	
red pepper	+	++	+	+	+	+	+	
citrus fruits	++	-	+	+	++	+	+	) thiabendazole
apples	++	++	+	+	++	-	-	) biphenyl
pear	++	++	+	+	+	-	-	) o-phenylphenole
banana(pulp)	+	+	-	-	-	-	-	thiabendazole
wine grapes	++	+	+	+	+	+	-	
apricot	-	++	-	-	+	-	+	
cherry	+	+	+	-	-	-	++	
plum	++	+	+	+	+	-	-	
strawberry	+	+	-	+	-	-	-	
fish(wild)	-	-	-	++	-	-	-	
cereals	-	-	-	-	+	-	+	chlormequat
dried fruits	-	-	-	-	-	-	++	
nuts	-	-	-	-	-	-	++	

a) OC = organochlorine

b) OP = organophosphorus

من الثابت ان العديد من مبيدات الآفات يمكن الكشف عنها عن طريق الـ (TLC) باستخدام الطرق المعلومة للمخلفات المتعددة . من الممكن تقدير المبيدات الكلورينية والفوسفورية والكاربامات والترايزينات . البقع الدالة للمركبات يمكن اظهارها بالاشعة فوق البنفسجية (UV) باستخدام الالواح الفلوريسينية بمساعدة الجواهر الكشافة الملونة .

الشكل (١) يوضح تقدير المركبات الكلورينية فى دهن الحيوانات بطريقة الـ TLC . و لقد اجرى الإستخلاص بطريقة ال FDA .

الدين
د د اى
د د ت
هبتاكلور
كلوردان
توكسافين
د د د
ديلدرين
اندرين
لندين
الدهن

سليكا جيل
ميثلين كلوريد
هكسان
٢٥ : ٧٥
(حجم / حجم)

شكل (١) : تقدير المبيدات الكلورينية فى كبد السمك بطريقة الـ TLC .

طريقة الكروماتوجرافى ذو الالواح الرقيقة تستخدم كطريقة سريعة للغربلة بين المركبات ضمانا لعدم تضييع الوقت والاستهلاك الغير واعى للاجهزة عالية التطور . يستطيع القائم بعملية التحليل المتمرس تحقيق نتائج نصف كمية تتميز بالدقة الكافية باستخدام المحاليل القياسية للمركبات القياسية يمكن على ضوئها تحديد ما اذا كان حد الامان اكثر من المسموح به او هناك حاجة لتحليلات متقدمة . بالاضافة لطرق الـ TLC توجد طرق اخرى اقل تكلفة تفيد فى تقدير مخلفات المبيدات . تعتبر المبيدات الفطرية من مجموعة الداى ثيوكربامات مثالا للمبيدات الهامة التى يمكن الكشف عنها وتقديرها بعد تحللها مائيا الى ثانى كبريتور الكربون بمساعدة الجواهر الكشافة الملونة . كثافة اللون بعد الاظهار يمكن قياسه ليس فقط بالطريقة الاسبكترومترية ولكن بمجرد النظر فى الضوء المرئى . سهولة شراء وتوفير اجهزة الاسبكترومترية البسيطة والرخيصة تجعل من الممكن تقدير العديد من المبيدات من اهمها البينوميل والمبيدات الفطرية القريبة التركيب منه . مركب الـ Thiabenda-zole ذات خاصية الفوريسينية القوية يمكن تمييزها وببساطة بتعريض عينات الثمار للأشعة فوق البنفسجية (UV) ومن تم تعتبر هذه احدى طرق الغربلة وتكشف عن مخلفات هذا المركب فى حدود جزء فى المليون او أكثر .

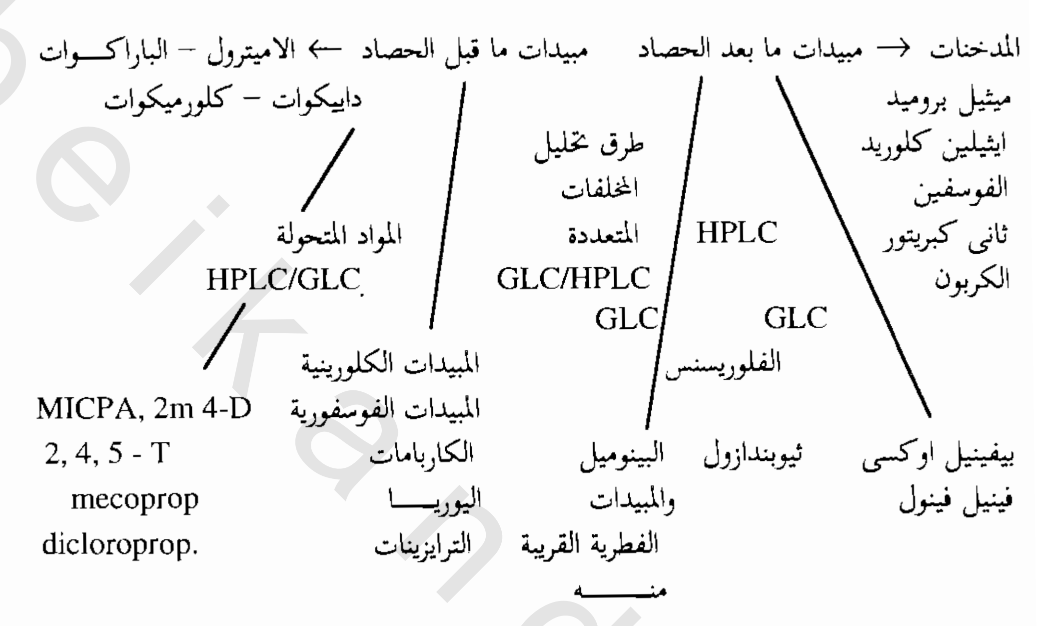
البرنامج (١) يوضح الاقتراب من عينة غير معروفة المنشأ باستخدام طرق قليلة التكلفة وهذا الاقتراب يعتبر ملائما من الناحية التطبيقية لعدة اسباب منها : البساطة وفى النهاية توجد حدود للطرق القليلة التكلفة خاصة ما يتعلق بقلة التخصص والحساسية فى حالة المخاليط المعقدة بوجه خاص ونفس الحال مع التركيزات الواطية . يتطلب التحكم والتحديد الدقيق لمخلفات المبيدات توفر اجهزة حديثة ومتقدمةوقد يميل تفكير البعض الى اعتبار جهاز الكروماتوجرافى الغازى GLC المزود بكاشفات متخصصة على اساس تجهيز معمل تحليل مخلفات المبيدات حديثا ، لكن يجب اعتبار اهمية اجهزة UV والاسبكتروميتر والـ HPLC فى هذا الخصوص .



برنامج (١) : الاقتراب قليل التكلفة لعينة غير معلومة المصدر .

يمكن تطوير طرق الاستخلاص للمخلفات المتعددة بنجاح بما يلائم الكروماتوجرافى الغازى GLC فى بعض الحالات للـ HPLC . من بين اهم مجموعات المبيدات الهامة ما لا يمكن استخلاصها بالطرق العامة للمخلفات المتعددة ولكن يكشف عنها بالـ GLC وهى مجموعة مبيدات حشائش الفينوكس . هذه المركبات تتحول لتكوين استرات متطايرة . الاستر يقدر بالكروماتوجرافى الغازى باستخدام الكاشف صائد الالكترونات او غيره من الكاشفات المتخصصة . يمكن تقدير مخلفات المدخنات واسعة الانتشار والاستخدام مثل البروميد الغير عضوى والايثيلين اوكسيد (الايثيلين كلوروهيدرين) والفوسفين وثانى كبريتور الكربون CS_2 بصورة كمية بطرق الكروماتوجرافى الغازى . يمثل الشكل (٢) تحليل عينة مجهولة المصدر بطرق الاجهزة . والطرق

المدونة هنا تشمل تلك التى اوصت بها لجنة الدستور الخاصة بمخلفات المبيدات والتى نشرتها هيئة الـ GIFAB . عندما يجرى التحليل روتينيا فى عينات مجهولة المصدر يجب ان تجرى اختبارات تأكيدية لتأكيد النتائج خاصة عندما تزيد المخلفات عن الحدود القصوى المسموح بتواجدها MRL او فى حالة كشف مخلفات مبيدات غير معروف ارتباطهـــا او استخدامها على السلعة محل الدراسة .



شكل (٢) : الاقتراب من تحليل عينية مجهولة المصدر بطرق الاجهزة .

واضح من الجدول (١) انه فى العديد من المواد الوسيطة توجد بعض مخلفات المبيدات بصورة منتظمة وفى هذه الحالة لا تكون هناك ضرورة لاستخدام الطرق التأكيدية مع جميـع العينـات . فى العادة تجرى الاختبارات التأكيدية بواسطة اعمدة بديلة للـ HPLC والكاشفات البديلة واسبكتروميتر الكتلة وظروف بديلة للـ TLC تفاعلات التحول وطرق الـ HPLC غالبا ما تكون بوسائل كشف مزدوجة واستخدام التفاعلات الكيميائية والطبيعية .

هناك ما يعرف بطريقة GLC/SIM (GlC- selected ion monitoring) كاختبار تأكيدى لتقدير المبيدات الكلورينية فى عينات كبد السمك حيث تتداخل الملوثات البيئية خاصة PCB's مع طرق التحليل . ويستعاض عن هذه الطريقة عالية التكلفة بطريقة الاختبار قليلة التكاليف والمعروفة (Rention Index monitoring) لتحليل وتقدير المخاليط المعقدة من مخلفات المبيدات . وهذه الاخيرة تعتمد على استخدام الكاشفات المتخصصةالقوية الحرارية (ATD) او صائدات الالكترونات (ECD) .

الفصـل الثلاثــون

– تحليل المخلفات فى المصادر المائية .

١ – مقدمـــة .

* زيادة الانتاجية .
* مكافحة ناقلات الامراض .
* مكافحة النباتات المائية .
* التسميم المتحكم فيه للبيئة .

٢ – مصادر المبيدات فى الماء .

* الصناعة .
* التطبيق .
* الصرف السطحى .
* تساقط واستقرار المبيدات من الجو .

٣ – تقسيم مبيدات الآفات .

٤ – الانتقال الحيوى .

٥ – الخواص الطبيعية والكيميائية .

* الذوبانية .
* التحلل المائى .
* التقطير او التبخير .

٦ – طرق الجمع .

* الادمصاص بالكربون .
* جمع العينات مباشرة من الماء .
* الاستخلاص بالطرد المركزى مع السوائل .

٧ – تنقية المستخلص

أ – الادمصاص الكروماتوجرافى .

ب – الكروماتوجرافى الورقى وذى الالواح الزجاجية المغطاة

* الكروماتوجرافى الورقى .
* الكروماتوجرافى ذو الطبقة الرقيقة على الالواح الزجاجية TLC .

جـ – الكرماتوجرافى السائل .

د – الاستخلاص المتعدد .

هـ – التسامى بالتفريغ .

٨ – تحليل المبيدات .

* قائمـــة المـــراجـــع



بسم الله الرحمن الرحيم

تحليل المخلفات فى المصادر المائية

R esidue Analyses in Water Resources

١ - مقدمـــــة Introduction :

* زيادة الانتاجية Increased Productivity :

الانسان فى صراع دائم ومستمر مع الطبيعة لكى يعيش بعيداً عن المعوقات والاضرار ومن المعروف انه يمكن تحقيق زيادة فى الانتاج الزراعى من خلال التوسع الافقى (زيادة المساحات المنزرعة) او التوسع الرأسى (من خلال زيادة الانتاجية فى وحدة المساحة) عن طريق الاستفادة من استخدام المبيدات التى ساهمت لحد كبير فى تقليل الفقد فى الانتاج الزراعى والحيوانى . لا يمكن ان تكون المبيدات مامونة تماما بل يصاحبها اخطار كبيرة تصل الى حد حدوث وفيات بشكل مباشر او غير مباشر من جراء التسمم بالمبيدات . من التأثيرات الخطيرة ما يحدث من جراء انتقال هذه السموم وفى كميات صغيرة بواسطة الماء او الهواء الى اماكن بعيدة لحد كبير عن المناطق التى تستخدم فيها المبيدات . وهذه تمثل مصدرا هاما من اسباب التأثيرات المتراكمة للمبيدات على الإنسان والحيوان والغير معروفة حتى الآن .

لا يقتصر الضرر الذى تحدثه الآفات على النباتات او الحيوانات لكنها قد تحدث اضرارا على اراضى الغابات والاشجار . عن طريق مكافحة الآفات يمكن زيادة انتاجية المحاصيل الحقلية والبستانية بالرغم من احتمالات حدوث اضرار على الكائنات الحية الموجودة فى مكان المعاملة بالمبيدات : لا يمكن تجاهل كميات المبيدات التى تتساقط وتصل الى التربة خلال عمليات التطبيق وبعد فترة من الانجراف والسريان تظهر مخلفات المبيدات فى مياه الصرف سواء كانت مدمصة على حبيبات الاتربة او موجودة فى مياه الرشح .

* مكافحة ناقلات الامراض Control of Disease Vectors :

منذ سجلت علاقة الطاعون بالحشرات مات ملايين من البشر بسبب الاصابة بالامراض التى تنقلها الآفات . فى المقابل تناقصت حدة الامراض التى ينقلها البعوض والذباب والبراغيث والقمل منذ اكتشاف واستخدام مبيد الددت . حدثت مشاكل مقاومة الحشرات لفعل الددت مما ادى الى الكشف عن مركبات ومجاميع فعالة اخرى من المبيدات للتغلب على هذه الظاهرة : من افضل الطرق لمكافحة ناقلات الامراض معالجة المياه الراكدة او بطيئة الجريان بالمبيدات للقضاء على الاطوار اليرقية فى اماكن التواجد هذه مما يقلل ايضا من مجموع العذارى ومن ثم الاجيال التالية . ان استخدام المبيدات فى هذا الغرض مقصود يؤدى الى تواجد المبيدات فى البيئة المائية وان كنا الآن نتجه الى استعمال مواد ذات امان نسبى عالى مثل مشابهات هورمونات الحداثة وغيرها من

المستحضرات الحيوية كالبكتريا او منظمات النمو الحشرية .

* مكافحة النباتات المائية Control of Aquatic Growth :

تستخدم كميات كبيرة من مبيدات الحشائش للتحكم فى نمو الحشائش المائية فى البحيرات ومستودعات المياه ومن المركبات التى تستخدم على نطاق واسع مركبات ٢ ,٤ د الاكرولين ٢ ، ٤ ،– ٥ – تى او غيرها . لقد كان هذا موضوع خلافى مع المهندس / وزير الرى السابق عندما تباهى باستخدام كم هائل من المبيدات فى نهر النيل شريان الحياة لمصر واعتبرتها جريمة بحق فى حق الشعب المصرى الكريم وناضلت فى سبيل ايقاف استخدام هذه السموم الخطيرة وقد وفقنى الله سبحانه وتعالى الى الصواب . وهناك مركبات عضوية كلورينية مثل الفيجون تستخدم لمكافحة نمو نباتات البلانكتون الاولية فى المياه وهذا يعنى تعمد اضافة المبيدات للمياه مرة اخرى .

* التسمم البيئى المتحكم فيه Controlled Poisoning of the Environment

فى بعض الحالات تستخدم مبيدات ذات سمية حادة عالية مثل التوكسافين لتسميم البحيرات بهدف طرد او القضاء على الاسماك الموجودة فى البحيرة وبعد تناقص تركيز المبيد الى اقل من الحد السام يتم زراعة البحيرة بنوع معين من الاسماك المرغوبة . تسميم البحيرات هذه لا يمر بدون اخطار حيث سيقوم تيار الماء المتدفق بحمل المبيد الى اماكن بعيدة .

لا نستطيع انكار ما قد يحدثه معاملة البحيرات بالمبيدات من اخطار على الاحياء المائية والمفترسات الارضية . ان النباتات المائية والحيوانات تستطيع ان تمتص وتركز هذه السموم فى البروتوبلازم الخلوى او فى الانسجة ومن ثم ادخال المبيدات بتركيزات عالية فى السلسلة الغذائية بعض التأثيرات يحدث فوريا وبشكل ماساوى وبعضها يحتاج لوقت والتأثيرات المؤكدة غير معلومة حتى الان .

* مصادر المبيدات فى الماء Sources of Water-Borne Pesticides

* الصناعة Manufacture :

تصل المبيدات الى المياه السطحية بطرق متعددة بعضها معلوم والاخر غير معلوم مصادره لقد تم الكشف عن مخلفات المبيدات فى المخلفات المنقاة من المصانع التى تقوم بتصنيع المواد الفعالة ، مخاليط المستحضرات للمبيدات . من المصادر المؤكدة مياه غسيل الملابس الواقية الملوثة التى يرتديها العمال والعاملون فى مصانع المبيدات . تعامل المياه المستخلصة من المصانع كيميائيا او حيويا قبل ادخالها فى المجارى المائية واذا لم تكن المعاملة كاملة وفعالة ١٠٠ ٪ سيكون تيار الماء يحتوى على كميات من المبيدات اعلى من ١ جزء فى البليون . بعد المعاملة وجدت كميات كبيرة من المبيدات فى الرواسب والنباتات المائية الاولية فى المياه . ان التخلص من المواد الصلبة المحتوية على المبيدات قد يسبب مشكلة كبيرة فى البيئة وقد تصبح مصدر من مصادر التلوث بالمبيدات اذا وصل الماء المتسرب الى التيار المتدفق من المياه . ان التخلص من المواد الصلبة الملوثة دون اجراء عملية الدفن قد تؤدى الى انتقال المبيد مع التربة التى تنجم من عمليات البخر التى تحدث مع سقوط الامطار الغزيرة .

مستحلبات المبيدات الناجمة من غسيل براميل المبيدات قد تكون مصدرا من مصادر التلوث اذا سمح لمياه الغسيل هذه بالدخول فى المجارى المائية . ان دور مصانع تجهيز المبيدات فى تلوث المياه مؤكدا وتوجد احصائيات كثيرة فى امريكا وغيرها من دول العالم ومنها مصر ويكفى لاى مار او زائر لمدينة كفر الزيات ان يشاهد بنفسه مأساة تلوث المياه من مخلفات المصانع الموجودة فى هذه المدينة ومنها مصنع المبيدات .

*** ٢ – التطبيق Application :**

لا يمكن تفادى انجراف المبيدات اثناء التطبيق من مكان المعاملة ووصولها الى اماكن اخرى فى اتجاه الرياح السائدة . اذا كان تيار الماء واقعا فى نطاق الانجراف لا مفر من تلوث المياه بهذه المستحضرات . هذه المشكلة تتفاقم مع الرش الجوى للمبيدات بالطائرات وما زلت اذكر ما حدث فى المزارع السمكية . فى محافظة الفيوم عند رش القطن بالطائرات فى الموسم وحدوث انجراف وسقوط المبيدات المنجرفة الى المزارع السمكية مما ادى الى كوارث . وهناك حالات تلوث عرضية فى المياه بالمبيدات او تكون مقصودة ومتعمدة .

*** ٣ – الصرف السطحى Surface drainage :**

الصرف السطحى للاراضى الزراعية لا بد ان يؤدى الى وجود مبيدات فى مياه الصرف بتركيزات تتراوح من بيكوجرامات الى ميكروجرامات لكل لتر من الماء . الرى بطريقة الغمر يتسبب فى حمل المبيدات مع الماء المنصرف اما الرى بالرش يصاحبه انجراف سطحى قليل بسبب حركة المياه القليلة خاصة مع المبيدات الذائبة فى الماء وحدوث الترسيب . اذا حدث ترسيب كبير لا يؤدى الى حمل المبيد بعيدا من جسيمات التربة بالانفراد والتحرير ولكنه سيؤدى الى نقل المبيدات مع التربة التى حدث لها نحر من مكان المعاملة . تكون هذه الظاهرة اكثر وضوحا فى المناطق المطيرة حيث تكون التربة الناشئة من عمليات النحر ملوثة بالمبيدات .

*** ٤ – تساقط واستقرار المبيدات من الجو Atmospheric deposition :**

هناك دراسات ووثائق اكدت تواجد المبيدات فى الجو كابخرة او مدمصة على جسيمات الاتربة من ثم قد تنتقل من اماكن تواجدها الى اماكن بعيدة وتسقط مرة اخرى مع الامطار وان كان ذلك جائزا فى البلاد الصناعية كامريكا الا ان البحوث التى وقعت فى يدى والتى أجريت فى مصر وضحت وجود المبيدات فى مياه الامطار بالرغم من ندرتها فى مصر .

*** – ٣ – تقييم مبيدات الآفات Pesitcide classification :**

يمكن تقسيم المبيدات تبعا للمجاميع الشائعة الفعالة والمسئولة عن إحداث التأثيرات المطلوبة على الآفات المستهدفة . من اكثر المجموعات شيوعا الكلورينية والفوسفورية والكاربامات وهناك مجموعات اخرى مثل الداى نيترو والاميدات والالدهيدات الغير مشبعة والاريل داى كربوكسيلات وغيرها . الجدول التالى يوضح اهم المجموعات الثلاثة الرئيسية والفرعية لكل منها ولن اذكر التركيب لاى باحث او قارئ يستطيع الوصول الى التركيبات الكيميائية بسهولة ويسر .

جدول (١) : تقسيم مبيدات الآفات .

المجموعة الرئيسية	تحت المجموعة	امثلة عن المبيدات
المبيدات الكلورينية العضوية	الأيدروكربونات الكلورينيــــة	لندين – الدرين هبتاكلور– ددت– كلثين
	ايدروكروبونات كلورينية ايبوكســية	ديلدرين – اندريـــن
	كلوروفينوكس	هبتاكلور ايبوكسيد ٢,٤ – د ٢ ، ٤ – ٥ – تى ،
	يوريا احلاليــة	يونيورون – ديورون نيبورون
المبيدات الفوسفورية العضـــــــوية	الفورسفور ودايثوات	مالايثون – داى سسيتون ايثيــــون
	فوسفوروثيوات	باراثيون – سيستوكس
	فوسفات	– فوزدرين
الكربامات	كاربامات	سفين ايتام – فابام
مبيدات كلورينية عضـــــوية	ترايازيــــــــن	سمازين – كلورازين
	كلورواسيتاميد	– رادوكس
	احماض عضوية كلورينية	تراى كلورواسيتك آسيد حامض ٢,٢ – داى كلورو – بروبيونيك آســـيد

تابع جدول (١)

المجموعة الرئيسية	تحت المجموعة	امثلة عن المبيدات
	مركبات كلورينية بها كبريت	اراميت – ميتوكس فينون – جينين
كاربامـــــات	داى يثوكربامات	

٭ ٤ – الإنتقال الحيوى Biological uptake :

يمكن ان تمتص المبيدات الكلورينية العضوية من المحاليل المائية بواسطة العديد من الاحياء المائية التى يمكنها ان تعيش تحت هذه الظروف اذا كانت المبيدات موجودة بتركيزات صغيرة غير سامة . تقوم هذه الاحياء فى هذه الظروف بامتصاص المبيدات وتخزينها فى الانسجة الدهنية و / أو تمثيلها الى مواد غير سامة . فى حالات معينة يحدث تمثيل كامل لهذه المبيدات . فى دراسة اجريت فى الولايات المتحدة الامريكية وجد الددت مخزنا فى المحار خلال ٤٠ يوما من التعرض بكميات تزيد عن ٧٠,٠٠٠ مرة عما هو موجود فى الماء من تركيز فى حدود او جزء فى البليون . وليست هناك ادلة على حدوث تسمم للانسان من جراء وجود المبيدات الكلورينية فى الماء فى حدود واحد فى التريليون بينما هناك ادلة عن حدوث تراكم من جراء التعرض لهذه التركيزات البسيطة من المبيدات .

هناك ادلة على حدوث انتقال للمبيدات الكلورينية مع النباتات المائية مثال ذلك امتصاص مبيدات مكافحة الطحالب بواسطة البلانكتون . اثبت Wheeler ١٩٦٥ امتصاص دد . اى والديلدرين بواسطة المجموع الجذرى لمحاصيل الحبوب والنجيليات الاخرى . وهذه المبيدات تتوزع بعد ذلك فى جميع اجزاء النباتات . من الغريب ان المبيدات الفوسفورية لا تسبب اخطارا كبيرة فى البيئة المائية كما هو الحال فى البيئة الارضية بسبب ان هذه المركبات اقل ثباتا فى الماء عن المبيدات الكلورينية . كما ان المبيدات الفوسفورية لاتخزن فى الانسجة الحيوانية . معظم النباتات المائية والارضية لها المقدرة على امتصاص المبيدات الفوسفورية والاحتفاظ بانسجتها ولفترة محدودة . المبيدات الفوسفورية من مجموعة الفوسفور ودائبوات والثيوات قابلة للاكسدة الى مركبات اكثر سمية بواسطة العديد من النباتات قد تحفظ على هذه الحالة فى البروتوبلازم الخلوى او الانسجة النباتية لفترات مختلفة من الوقت .

لا توجد ادلة على ان المفترسات الموجودة فى الماء والتى تتغذى على البلانكتون المحتوى على المبيدات الفوسفورية تستطيع تناول كميات كافية تؤدى الى التسمم او الموت .

بسبب الذوبان العالى للمبيدات الفوسفورية فى الماء ثم الكشف عنه وتطوير ما يعرف بالمبيدات جهازية Systemic ومن احد طرق التطبيق لهذه المجموعة السماح لمحلول مائى منها

التحرك خلال التربة ووصوله الى منطقة الجذور حيث يقوم النبات بامتصاصها . من الشواهد المؤكدة ان النباتات المائية المغمورة او الطافية فى الماء المحتوى على المبيدات الفوسفورية تستطيع ان تزيل هذه المبيدات من الماء او الرواسب العالقة فى الماء . او فى القاع من خلال الامتصاص بواسطة الجذور .

* ٥ – الخواص الطبيعية والكيميائية Physical and Chemical Properties :

١ – الذوبانية Solubility :

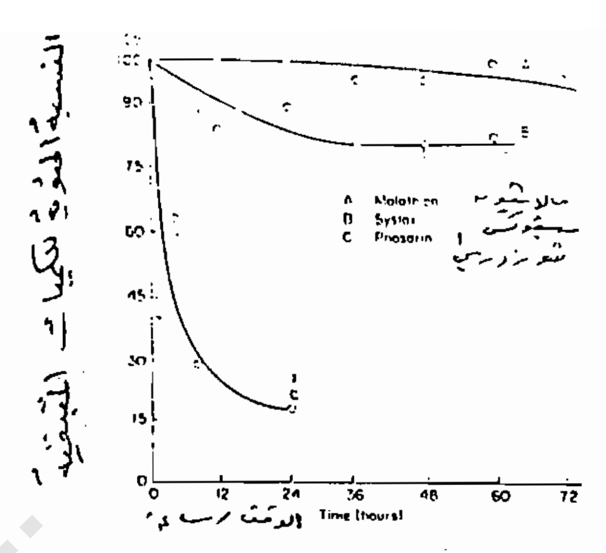
تختلف ذوبانية المبيدات الكلوروينية العضوية فى الماء تبعا للتركيب الكيمائى للمركب ولاغرابة فقد يوجد الددت فى صورة محلول حقيقى او فى تجمعات جزيئية فى المحلول المائى حيث تصل حجم الجسيمات ١,٢ ميكروجرام/لتر و ١٥ ميكروجرام/لتر على التوالى على درجة حرارة ٢٥°م وأقطار الجسيمات تصل الى ٤١ فى مقابل ١٠٠٠ ميكرونفى المحلول الحقيقى والمعلق على التوالى . تمثل الحبيبات الكبيرة فى المعلق ٨١٪ والدقيقة ١٠٪ . درجة قطبية المركب تحدد ذوبانيته فى الماء . بالرغم من تماثل مركبات المويثورون والديورون (مجموعة الكلوروبوريا) الا ان الذوبانية كانت ٤٢,٢٣٠ ملليجم/لتر على التوالى . هناك اختلافات كبيرة فى ذوبانية المبيدات الفوسفورية بوجه عام يمكن القول ان مركبات الداثيوات اقل ذوبانية من الثيوات وهما فى المقابل اقل ذوباناً من الفوسفات او الفوسفونات . لتوضيح ذلك نشير الى ذوبانية بعض المركبات الفوسفورية العضوية ملايثون ١٤٥ ملليجم/لتر ديازينون ٠٤ر ملليجم/لتر دايسيتون ٠٢٥ر ملليجم / لتر .

ب – التحلل المائى Hydrolysis :

المبيدات الفوسفورية غير ثابتة فى الماء بسبب قابليتها للتحلل المائى . بوجه عام فان معدل التحلل فى الماء المتاين او المقطر يزيد مع نقص الكبريت فى جزئ استرات الفوسفور الخماسى الشكل (١) يوضح النسبة المئوية للملايثون والسيتوكس والفوزدرين المتبقية فى الماء المتأين على درجة حموضة ٥,٥ ودرجة حرارة ٢٥°م . تتوقف درجة التحلل المائى للمبيد الفوسفورى على نوع الايونات الموجودة وكذلك درجة الحموضة . لقد وجد Dunstan ، ١٩٦٣ ان معدل التحلل المائى يزداد بزيادة الحموضة .

حـ – التقطير او التبخير Codistillation :

بعض المبيدات الكلورينية يحدث لها تقطير مع الماء كما يحدث فى الددت تحت درجة حرار محددة وقد اظهرت الاشكال البيانية حدوث معدلات التقطير للددت.



النسبة المئوية للكميات المتبقية

شكل (١) : التحلل المائى للمبيدات الفوسفورية العضوية عند تركيز اقل من ١٠٠ ميكروجرام / لتر على ثلاثة درجات حرارة مختلفة وكانت العلاقة بين التقطير والتبخير خطية . هناك تأكيدات على ان معظم المبيدات الغير قطبية يحدث لها تقطير او تبخير مع الماء .

مازال هذا الجزء من الدراسة فى حاجة الى بحوث .

* ٦ – طرق الجمع Methods of collection :

يتوقف اختيار طريقة جمع عينات الماء على تركيز المبيد فى الماء وكمية عينة الماء المتاحة وحساسية الطريقة او الطرق المستخدمة فى التحليل . توجد ثلاثة طرق شائعة الاستخدام هى (١) الجمع المباشر لعينات المياه (٢) الإستخلاص بالطرد المركزى بين وسطين سائلين . (٣) الادمصاص على الفحم المنشط . نستخدم الطريقتين الاخيرتين للعينات خلال فترات طويلة مع المبيدات الموجودة بكميات صغيرة فى حدود البيكوجرام او اكثر . الطريقة المباشرة غالبا ما تستخدم فى حالة ما اذا كان مطلوب اخذ عينات كثيرة لحظية حيث يكون حجم عينة الماء قليلا حوالى ٢٠ لتر او اقل او / وعندما تكون المبيدات موجودة فى مستوى النانوجام / لتر او اكبر .

١ – الادمصاص بالكربون Carbon adsorption :

من اكثر الطرق التى شاعت كثيرا منذ عام ١٩٦٠ حيث أستخدمت فى الولايات المتحدة الأمريكية لاستكشاف تلوث الماء فى البرنامج القومى الذى وضع هناك . لن اخوض فى تفصيلات الطريقة وعلى كل من يرغب ان يبذل الجهد ويطلع على تجارب الآخرين . اساس هذه الطريقة مقدرة الكربون المنشط على الادمصاص الكمى للمركبات من الماء ثم تحرير المركبات الممسوكة على الفحم باستخدام المذيبات العضوية المتطايرة والملائمة او مخاليط المذيبات .

١ - الجمع على الكربون :

يستخدم اسلوب الادمصاص العملى بطريقة السريان العالى وحجم العينة المناسب هنا ١٨,٩٢٥ لتر بينما الانسياب المنخفض يحتاج الى ١٠٠٠ لتر فى العينة . هذا يستدعى اخذ العينات على مدى اسبوع فى العينات التى تحتوى على تركيزات من المبيدات تتراوح من ٠٥ر نانوجرام وحتى ٠٥ر ميكروجرام / لتر / والرسم التالى يوضح تركيب وحدة الادمصاص ذو السريان العالى مع الكربون والتى تستخدم فى جهاز خدمات الصحة العامة الامريكى لاستكشاف تلوث الماء (١٩٧٤) . ومعظم البحاث يقومون بمحاكاة هذه الوحدة ويجرى دراساتهم عليها . فى الوحدة يتم ضخ الماء او يسمح له بالانسياب تحت ضغط جوى من ١٥ - ٥٠ ضغط جوى . يتم ضخ الماء فى خزان سعة ٣٠ جالون وتحفظ فيه لمدة ١ - ٢ ساعة وحتى يزال كل الرواسب المستقر فيها . قد يزود الخزان بصمام او مرشح للتخلص من الغرويات والمواد العالقة أو مرور الماء بعد ضخها على مرشح وحديثا تم تطوير انبوب الادمصاص Cartridge المصنوع من زجاج خاص من البروسليكات ذات قطر ٣ بوصات و ١٨ بوصة فى الطول وهو مملوء بكربون على درجة عالية من النقاوة ٣٠ مش . ولقد شاهدت البحاث فى معمل بحوث التلوث البيئى والرى الكيميائى « chemigation » فى محطة بحوث تفتون Tefton فى جامعة جورجيا فى الولايات المتحدة الامريكية يعملون بهذه الانابيب للحصول على المبيدات من المياه .

من الطبيعى ان كميات المبيدات التى تصل الى الفحم المنشط تكون اقل من الكميات الاصلية الموجودة فى الماء . من المعروف ان الفحم النشط غير متخصص حيث يعمل على ادمصاص العديد من المركبات العضوية الموجودة فى الماء ولقد اتفق على ان وقت تلاقى الكربون مع الماء للحصول على اقصى ادمصاص للمبيد على الفحم من ١٥ - ٢٠ دقيقة . يحدث اعلى ادمصاص عندما يكون الماء حامضى قليلا او متعادل .

لقد وجد ان تقليل معدل الانسياب خلال انبوب الكربون وتقليل كميات المواد العضوية الموجودة فى الماء سيزيد من كفاءة عملية الادمصاص بالكربون . لقد صمم (Castelli ، ١٩٦٤ and Booth) نظام للتحكم وقياس التلوث فى كميات صغيرة من الماء عند معدلات انسياب منخفضة وتم تطوير الوحدة بواسطة Reid وآخرون ١٩٦٤ وهى وحدية متنقلة تحتاج فقط الى مصدر كهربى .

٢ - تحرير المبيد من على الكربون Pesticide desorption :

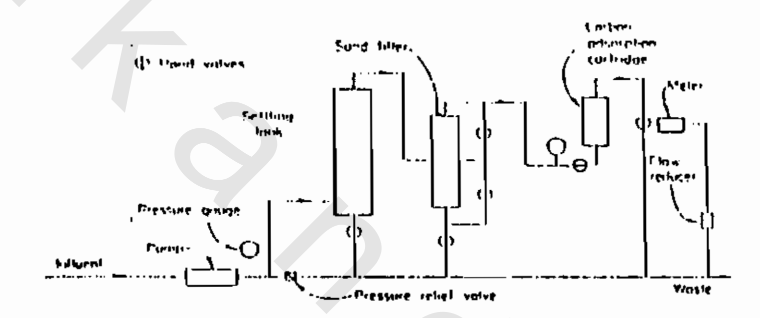
بعد اكتمال وقت الادمصاص تزال الانابيب وتجفف محتوياتها قبل الاستخلاص او يجرى الاستخلاص وهى مبلولة . اذا اجرى التجفيف لا يمكن استبعاد حدوث بخر وفقد لكمية من المبيد مع الماء وقد يجرى الاستخلاص بواسطة جهاز سوكسلت المتطور ولمدة ٢٤ - ٣٥ ساعة وقد تحتاج لسلسلة من عمليات الاستخلاص لا نستطيع ان نوصى بمذيب معين او مخلوط من عدة مذيبات

للحصول على المبيدات المدمصة على الكربون حيث ان معدل الاسترجاع Recovery هو الفيصل والاساس . لابد ان تستخدم مذيبات عضوية عالية النقاوة ومن اكثرها شيوعا المذيبات التالية :

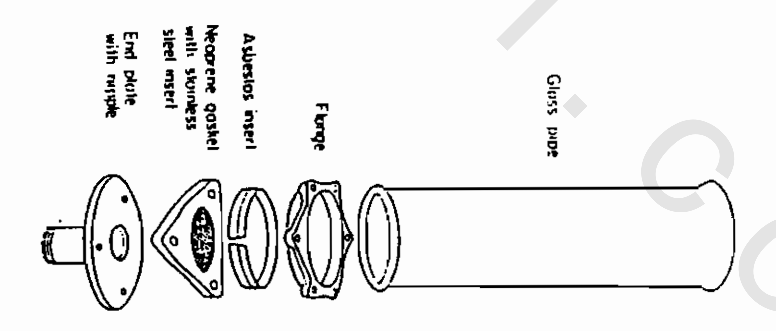
* مخلوط الكلوروفورم والميثانول ١ : ١ أو الدايكلورور ايثان ٢٠ ٪ فى البتروليم ايثير وهى تفيد فى تحرير المبيدات الكلورينية العضوية ومشتقات الايبوكس للايدروكربونات .

* البنزين او مخلوط البنزين مع الايزوبروبيل وتفيد فى تحرير المبيدات الكلورينية الحلقية والعطرية والمبيدات الفوسفورية من مجموعة الثيوفوسفات .

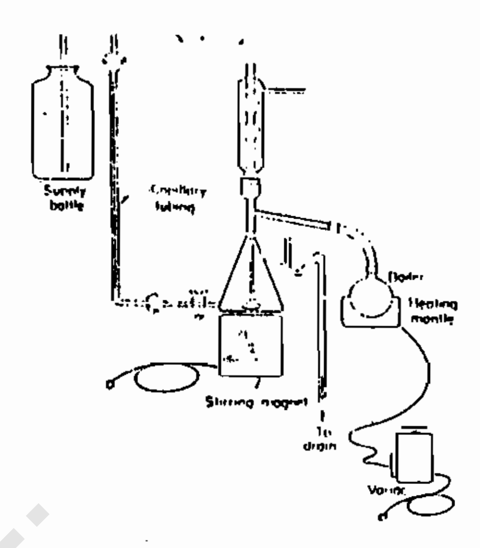
* لقد اشار هاملتون (١٩٦٣) امكان تحرير المركبات العضوية من على الكربون المبلول باستخدام ٤٧ ٪ دايكلوروبروبان فى الميثانول يسمح بتبخير ما يقرب من ٣٠٠ – ٥٠٠ ملليلتر مذيب ثم يبخر الباقى بالتبخر تحت التفريغ على درجة حرارة منخفضة ثم يركز الباقى باستخدام وحدة كودرنادانيش . فى جميع الحالات يجب تنظيف المستخلص قبل التحليل النهائى .



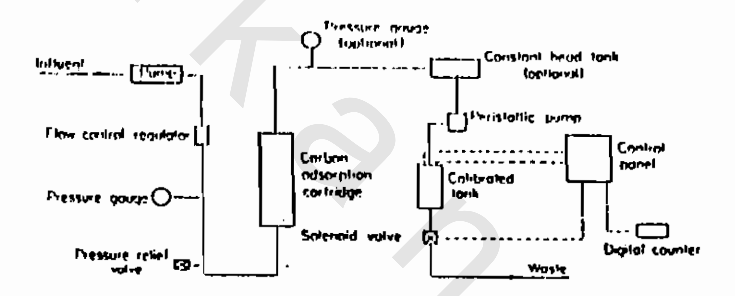
شكل (٢) : رسم توضيحى لوحدة الإدمصاص على الكربون ذات الإنسياب العالى



شكل (٣) : كبسولة الإدمصاص الكربونية



شكل (٥ – ب) : رسم تخطيطى لجهاز الإستخلاص المستمر للمبيدات الكلورينية



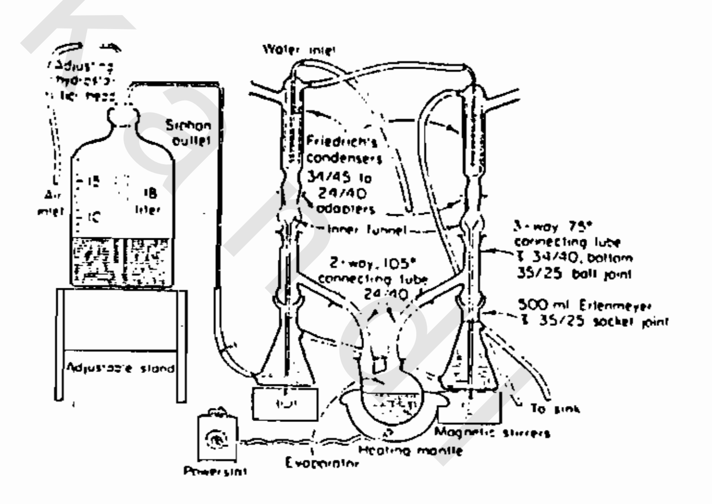
شكل (٤) : رسم تخطيطى للإدمصاص بالكربون ذات الإنسياب البطئ

ب – جمع العينات مباشرة من الماء

يمكن جمع عيناء الماء مباشرة فى زجاجات botted samples فى ظروف معينة بالطريقة تتضمن جمع حجم معلوم (من ١ وحتى ٢٠ لتر ماء) فى اناء زجاجى او مصنوع من التيفلون مزود بغطاء من التيفلون او مبطن بالتيفلون . يجب اخذ كافة الاحتياطات حتى نضمن ان تكون العينة ممثلة للمجموع . يمكن الحصول على المبيد بتكرار عمليات الاستخلاص . طريقة جمع العينات هذه لها مميزات وعيوب بالمقارنة بطريقة الادمصاص على الكربون او الكفاءة العالية فى مسك وتحرك المبيدات من الماء يمكن تحقيقها باستخلاص عينات متميزة وواقعية والوقت اللازم لتجهيز العينات قليل وفى المقابل يجب ان يكون محتوى من المبيدات عاليا ، كما نحتاج لعمليات تنقية كبيرة للعينات فى حالة احتوائها على مواد عضوية . أشار Gaufin عام ١٩٦٥ الى خطوات هذه الطريقة حيث تؤخذ عينة واحد لتر ماء وتنقل الى قمع فصل سعة ٢ لتر ثم يقفل باحكام بصنبور من التيفلون . يحمض الماء باضافة ٢ ملليلتر حمض ايدروكلوريك مركز ويكرر الاستخلاص مع ١٠٠ ملليلتر مرة واحدة واربعة مرات كل منها ٥٠ ملليلتر مذيب عضوى .

هناك احتمال لتكوين مستحلبات بالرغم من اضافة الحامض ومن ثم يمكن التغلب على عملية الاستحلاب باضافة قليل من الإيثانول . يتم ترشيح مجموع المستخلصات فى عمود من كبريتات الصوديوم اللامائية للتخلص من اى اثار متبقية من الماء . يتم جمع المستخلصات الجافة وتركز بالتبيخر تحت تفريغ او اى مركز اخر وقبل عمليات التقية .

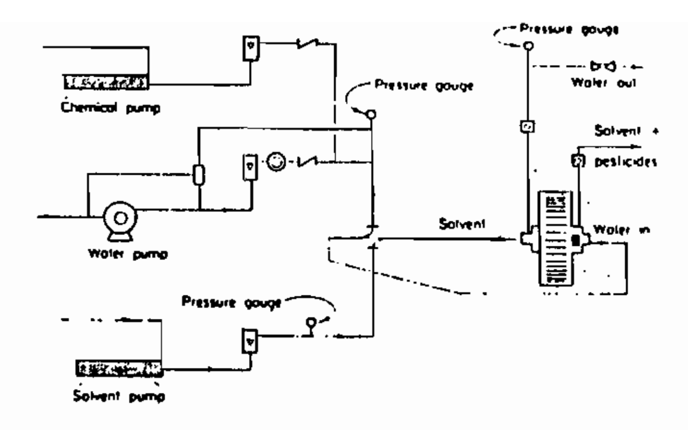
هناك طرق عديدة يمكن الرجوع اليها وهى اكثر تطورا .. ومثال ذلك طريقة Kawahara واخرون عام ١٩٦٥ . لقد نجحت المذيبات التالية فى استخلاص المبيدات الكلورينية ومشتقاتها الايبوكسية والمبيدات الفوسفورية العضوية – هكسان ، رابع كلوريد الكربون ، كلوروفورم ، ٢٠ ٪ دايكلوروميثان فى البترولیم ایثر ، البنزين وكذلك مخلوط من الايثايل ايثر والبتروليم ايثر ١ : ١ . لقد طور جهاز للاستخلاص المستمر بواسطة الباحثان Sanderson and Ceresia عام ١٩٦٥ وهو يفيد جدا فى حالة العينات المحتوية على كميات صغيرة من المواد العضوية الذائبة . هناك جهاز اكثر تطورا من تصميم الباحثان Kahn and Wayman عام ١٩٦٤ للاستخلاص المستمر وتم تحويره بواسطة Nair and compton (١٩٦٦) يصلح للمبيدات الكلورينية مثل الالدرين والديلدرين .



شكل (٥ – أ) : رسم توضيحى لجهاز الإستخلاص السريع والمستمر والمجهز مع الجاذبية

جـ – الاستخلاص بالطرد المركزى مع السوائل

تعتبر من احدث الطرق لجمع وتركيز المركبات العضوية من الماء فى المواقع الميدانية . اخذت طريقة الاستخلاص ميزة الادمصاص العالى مع المذيب بدون تحديد لحجم عينة الماء وبدون تكوين المستحلبات بين المذيب والماء . ثم تصميم جهاز لجمع الملوثات العضوية من المياه السطحية بواسطة Bunch and Ettinger (١٩٦٥) كما هو موجود فى الشكل (٦) . وهذا الجهاز سهل الحمل والنقل ويحتاج لمصدر للطاقة .



شكل (٦) : رسم توضيحى عن المستخلص الإنسيابى المعتمد على الطرد المركزى بين سائلين

* ٧ - تنقية المستخلص

المستخلصات المركزة التى تم الحصول عليها باى من الطرق الثلاثة السابقة لابد وان تحتوى على مركبات عضوية بخلاف المبيدات . كمية المواد المتداخلة فى المستخلص تتوقف على تركيزها فى عينة الماء وحجم العينة ومدى الفصل الجزئى لها من الوسط المائى الى المذيب العضوى . من المؤسف ان بعضا من هذه المواد العضوية « شوائب » تستجيب بنفس طريقة استجابة بعض المبيدات عند التحليل ومن ثم يجب التخلص من هذه المواد العضوية المتداخلة وقبل تركيز المستخلصات ويتم ذلك باحد الطرق التالية :

أ - الادمصاص الكروماتوجرافى :

تستخدم نفس طرق التنظيف الشائعة من المواد الغذائية فى تنظيف المستخلصات المتحصل عليها فى الماء من الشوائب والمواد العضوية الموجودة . سليكات الألومنيوم كما جهزت فى طريقة Smith and Coulson (١٩٦٢) تعتبر مفيدة فى تنظيف المستخلصات المحتوية على مواد نباتية متحللة وكذلك الصبغات النباتية . المحلول المحتوى على ٦ ٪ ايثيل إيثر فى الهكسان سيزيح معظم المبيدات الكلورينية او الثيوفوسفات من سليكات الالومنيوم بمعدل استرجاع اكثر من ٩٠ ٪ . الهكسان يستطيع ازاحة الالدرين وال د د ت وبزيادة نسبة الايثيل ايثر فى المخلوط عشر مرات او اكثر يمكن ازاحة المبيدات الاكثر قطبية .

نجح الفلوروسيل نجاح محدود كمادة ادمصاصية فى تنظيف المستخلصات المحتوية على الصبغات والمواد النباتية والحيوانية . الفلوروسيل المعاد تنشيطه على درجة حرارة ٦٥٠°م يصلح مع المبيدات الكلورونية والفوسفورية المحتوية على مجموعة الثيو ويمكن ازاحة هذه المبيدات باستخدام مخلوط يحتوى على ٢٠ ٪ دايكلورو ايثان فى البتروليم ايثر .

المستلخصات المحتوية يعلى كميات عالية من المواد الدهنية او الشمعية يستخدم معها الالومينا القاعدية ويتم ازاحة المبيدات المدمصة عليها بواسطة مخلوط الايثيل ايثر - هكسان او مخلوط الاسيتونتريل مع الماء . يستخدم البنزين المبلول للتخلص من الصبغات والمواد النباتية من المستخلصات المائية ومادة الادمصاص مخلوط من الكربون النشط المغسول بالحامض والأتكلاى ويتم ازاحة المبيدات بواسطة البنزين فى الماء ومعدل الاسترجاع عالى .

ب - الكروماتوجرافى الورقى وذى الالواح الزجاجية المغطاة :

هذه الطريقة تحتاج لوقت طويل ولكنها تحقق معدلات استرجاع عالية .. سنتناول هذه الطرق باختصار :

* ١ - الكروماتوجرافى الورقى : قدم فيليبس (١٩٦٤) طريقة فيها يتكون الوسط الثابت من شحم السيليكون SE - 30 فى الايثيل ايثر ووسط متحرك من ٩٠ ٪ ايثانول فى الماء المقطر . هذه الطريقة تفيد فى حالة المبيدات الكلورينية ويفضل تغيير الوسط المتحرك الى ن ، ن - دايميثيل فورماميد مع المبيدات الفوسفورية . قد سبق وصف هذا التكنيك بالتفصيل ، ونشير الى انه بعد تجهيز الورقة بالوسط الثابت يتم تنقيط المستخلص بالمقارنة بنقطة من المبيد القياسى وتجرى عملية الازاحة بالوسط المتحرك ويعلم مكان المبيد وتفصل المنطقة ويجرى عليها التقدير .

*** ٢ - الكروماتوجرافى ذو الطبقة الرقيقة على الالواح الزجاجية :**

تعطى نفس النتائج بالفصل الورقى ولكنها تأخذ وقتا اقل وتكون ازاحة المبيد اكثر سهولة . ثبت ان افضل مواد الادمصاص هى السليكا جيل G او الكيسيل جيل G لفصل المبيدات الكلورينية وكذلك الفوسفورية واحسن مذيب مع الكلورينية هو رابع كلوريد الكربون ، اما مخلوط البنزين مع الاسيتون ٩ : ١ يصلح مع المبيدات الفوسفورية .

جـ - الكروماتوجرافى السائل :

استخدمت هذه الطريقة لفصل المبيدات الفوسفورية الجهازية من الماء والمواد الغير ذائبة الموجودة فيها . يمكن الرجوع الى De Vries (١٩٦٥) .

د - الاستخلاص المتعدد :

هناك جهاز يحقق الاستخلاص المتعدد ذو الخمسة اطباق . ولقد شاهدت وحدة متطورة جدا فى ولاية ميريلاند - وزارة الزراعة الامريكية USDA ، ولقد نجح Beroza (١٩٦٥) فى استخدام جهاز كريج Craig.

هـ - التسامى بالتفريغ :

اقترحت هذه الطريقة لفصل المواد الاضافية المتطايرة من الغذاء بواسطة Mr Cauley and Cook (١٩٦١) وقام Furrow وآخرون عام ١٩٦٥ بتحسين كفاءة هذا الجهاز وجعله مناسبا لفصل وتنقية مخلفات المبيدات من الشوائب الموجودة فيها . عند ضغوط ٣ تتطاير العديد من المبيدات وتتسامى او تتبخر على درجة ٨٥°م . يمكن بعد ذلك تقطير او تكثيف البخار فى مصيدة مغموسة فى الثلج الجاف والاسيتون . معظم المواد العضوية الموجودة فى الماء تكون اقل تطايرا من المبيدات (اقل ضغط بخارى) مما يجعلها مستقرة فى دورق التفريغ . قد يفضل اجراء تنظيف اضافى من خلال الكروماتوجرافى على الالواح الزجاجية أو الغازى . التسامى على درجة ٨٥°م لمدة ٨٥ دقيقة تعطى معدل استرجاع على معظم المبيدات الفوسفورية العضوية وبعض الكلورينية . فى حالة العينات المجهولة يجرى التسامى لمدة ٤٠ دقيقة .

* ٨ - تحليل المبيدات :

تتواجد مخلفات المبيدات فى الماء بكميات صغيرة جدا فى حدود النانوجرام وهذا يتطلب استخدام طرق حساسة ودقيقة للإستخلاص والتنقية والتقدير . منعا للتكرار سأشير الى اهم الطرق المستخدمة فى التقدير النهائى للمبيدات حيث تناولت فى ابواب سابقة جميع الطرق بالتفصيل .

أ - الكروماتوجرافى الغازى .

ب - الكروماتوجرافى الورقى ذو الالواح المغطاة بالطبقة الرقيقة .

جـ - الاسبكتروسكوبى بالاشعة تحت الحمراء .

د - الاسبكتروسكوبى الخاص بالكتلة .

هـ - الطرق البولاروجرافية .

REFERENCES قائمة المراجع

Acree, F., Jr., Beroza, M., and Bowman, M. C. (1963). J. Arg. Food Chem. 11, 274.

Amy, J. W., Chait, E. M., Battinger, W. E., and McLafferty, F. W. (1965). Anal. Chem. 37, 1965.

Benyon, J. H. (1960). "Mass Spectrometry and Its Application to Organic Analysis." American Elsevier, New York.

Beroza, M. (1965). Abstrs. 149th Meeting Am. Chem. Soc., Detroit, Michigan, April, 1965, p. 16A.

Booth, R. L. (1963). "Optimum Sampling, Rate and Sample Volume for Quantitative Measurements of oragnics by the Present Standard Carbon Adsorption Method." U.S. Dept. Health, Education and Welfare, Public Health Service, Div. Water Supply and Pollution, R. A. Taft San. Engrg. Center, Cincinnati, Ohio.

Bowman, M. C., Acree, F., Jr., and Corbett, M. K. (1960). J. Agr. Food Chem. 8, 406-408.

Bunch, R. L., and Ettinger, M. B. (1965). paper presented at 20th Ind. Waste Conf., Purdue Univ., Lafayette, Indiana.

Burtchell, H., and Boyle, H. E. (1964). Preprint. 147th meeting Am. Chem. Soc., Dic. of Water and Waste Chemistry, Philadelphia, Pennsylvania, April, 1964, Vol. 4. p. 134.

Castelli, J. A., kand Booth, R. L. (1964). "Metering and Measuring Liquid at Low Flow Rates." U.S. Dept. Health, Education and Welfare, Public Health Service, Div. Water Supply and Pollution, R. A. Taft San. Engrg. Center, Cincinnati, Ohio.

Cavanagh. L. A. (1963). Pesticide Res. Bull. 3, 1. Stanford Research Inst., Menlo Park, California.

Cohen. J. M., and Pinkerton, C. (1965). Preprint, 150th Meeting Am. Chem. Soc., Div. Water, Air, and Waste Chem., Atalntic City, New Jersey, September, 1965, Vol. 5, p. 20.

Devlries, D. M. d(1965). Abstrs. 149th Meeting Am. Chem. Soc., Detroit, Michigan, April, 1965, p. 6A.

Farrow, R. P., Elkins, E. R., Jr., and Beachman, L. M. (1965). J. Assoc. Offic. Arg. Chemists 48, 738.

Fishbein, L., and Zielinski, W. L., (1965). J. Chromatog. 15, 9.

Hamilton, C. E. (1963). Water Sewage Works 110, 422.

Hindin, E., and Dunstan, G. H. (1963). Research Rept. 63/12-155, Div. Ind. Res., Washington State univ., Pullman, Washington.

Hindin, E., Hatten, M. J., May, D. S., Skrinde, R. T., and Dunstan, G. H. (1962). J. Am. Water Works Assoc. 54, 88.

Hinjdin, E., May, D. S., and dunstaqn, G. H., (1965). In "Residue Reviews" (F. A. Gunther ed.), Vol. 7, p. 130. Springer, New York.

Kahn, L. and Wayman, C. H. (1964). Anal. Chem. 36, 1340.

Kantner, T. R., and Mumma, R. O. (1965). Abstrs. 150th Meeting Am. Chem. Soc., Atlantic City, New jersey, September, 1965, p. 13A.

Kawahara, F. K., Eichelberger, J. W., Reid, B. H., and Stierli, H. (1965). Public Health Service Water Pollution Surveillance System Applications Report No. 16, Dept. H.E.W., P. H. S., R. A. Taft Engrg. Center, Cincinnati, Ohio.

Lamar, W. L., Goerlitz, D. F., and Law, L. M. (1965). Abstrs. 150th Meeting Am. Chem. Soc., Atlantic City, New jersey, September, 1965, p. 27X.

Langlois, B. E., Stemp. A. R., and Liska, B. J. (1964). J, Agr. Food Chem. 12, 243.

McCauley, D. F., and Cook, J. W. (1961). In "Instrumental Methods for the Analysis of Food Additives" (W. H. Butz and H. J. Noebels, eds.), p. 83, Wiley (Interscience), New York.

McKinley, W. P. (1963). In "Analytical Methods for Pesticides, Plant Growth Regulators, and Food Additives" (G. Zweig. ed.) vol. I, p. 227. Academic Press, New York.

Nair, J. III. and Compton, B. (1966). Private communication. Syracuse University Research Corp.

Nicholson, H. P., Webb, H. J., Lauer, G. J., O'Brien, R. D., Grzenda, A. R., and Shanklin, D. W. (1962). Trans. Am. fisheries Soc. 91, 213.

Phillips, W. F. (1964). Abstrs, 148th Meeting Am. Chem. Soc., chicago. Illinois, September, 1964, p. 23 A.

Reid, B. H., Stierli, H., Henke, C. F., and Breindenbach, A. W. (1964). Public Health Service Water Pollution Serveillance System Application and Development Report No. 13, Dept. H. E. W., P. H. S., Div. of Water Supply and Pollution Control, Wahsington, D. C.

Rollins, R. Z. (1960). proceedings 10 th Convention Agri.. Aircraft Assoc. Inc., Palm Springs, California.

Rosen, A. A., and Middleton, F. M., (1959). Anal. Chem. 31, 1729.

Sanderson, W. W., and Çeresia, G. B. (1965). J. Water Pollution control Federation 37, 1167.

Saunders, R. A., and Williams, H. E. (1963). In "Mass Spectrometry of Organic Ions" (F. W. McLafferty, ed.), p. 354. Academic Press, New York.

Sigworth, E. A. (1959). Taste and Odor Control J. 25, 4.

Smith, D. J., and Eichelberger, J. W., (1964). Public Health Service Water Pollution Surveillance System Application and Development Report No. 9, Dept. H.E.W., P.H.S., R. A. Taft San. Engrg. Center, Cincinnati, Ohio.

Smith, O. D., and Coulson, D. M. (1962). pesticide Res. Bull. 2, 15. Stanford Research Inst., Menlo Park, California.

Teasley, J. I., and Cox, W. S. (1963). J. Am. Water Works Assoc. 55, 1093.

Thornburg, W. W. (1963). In "Analytical Methods for pesticides, Plant Growth Regulators, and Food additives" (G. Zweig, ed.), kVol. I, p. 87. Academic Press, New York.

U.S. Dept. Health, Eductation, and Welfare (1960). "National Water Quality Network Operating Manual." Public Health Service, Washington, D.C.

U.S. Dept. Health, Eductation, and Welfare (1964)." the Identification and Measurement of Chlorinated Hydrocarbon Pesticides in Surface Water," Public Health Service, publ. No. 1241, Washington, D.C.

U. S. Fish and Wildlife Service (1965). Absts. In Water newsletter 7, Sept. 22, 1965, Water Information Center Inc., New York.

الفصل الواحد والثلاثون

– تحليل المبيدات فى السمك والحياة البرية

Pesticide Analysis in Fish and wildlife

* مقدمــة Introduction .

* مشاكل المبيدات على الاسماك والحياة البرية

Fish and wild life pesticide problems

* اهمية مخلفات المبيدات Importance of pesticide residues

– تعرض الأسماك والاحياء البرية لمبيدات الآفات

Exposure of fish and wildlife to pesticides

أ – مصدر التعرض Source of exposure .

– انواع التعرض Types of exposure .

– سمية وضرر مبيدات الآفات Toxicity and hazards of pesticides

– التأثيرات المباشرة وغير المباشرة لمبيدات الآفات .

Direct and indirect effect of pesticides

– دراسات عن المبيدات والاسماك والاحياء البرية

Fish and wild life pesticide studies

١ – الدراسات المعملية Laboratory investigations

٢ – الاختبارات التى تحاكى الحقيقة Simulated field tests

٣ – الاختبارات الحقلية Field investigations

أ – الاستكشاف Monitoring

ب – الحصر Surveillance

جـ – البحث Research

– اخذ العينات لتحليل مخلفات المبيد

Sampling for pesticide residue analysis

أ – التخطيط لبرنامج العينات Planning the sampling program

ب – احجام العينة Sampling sizes

تحليل المبيدات فى السمك والحياة البرية

* مقدمة :

يحدث استخدام المبيدات تأثيرات رهيبة على العديد من اعداد وانواع الحيوانات . الفوائد التى تنتج من مكافحة الآفات بالمبيدات تقاس من خلال نقص تعداد الآفات اما التأثيرات المعاكسة تأتى من الاضرار التى تحدثها على الكائنات الغير مستهدفة . بالرغم من الهدف المقصود فى استخدام المبيدات هو مكافحة الافات الضارة الا ان التأثير قد يشمل الانواع الضارة والغير ضارة على السواء . ان المبيدات الحديثة تميل الى استخدام المركب الفعال ضد آفة واحدة ومن النادر ان يقتصر تعرض الكائن المستهدف لهذا المركب لذلك يمكن القول انه طالما استمر الانسان فى إستخدام المبيدات سيستمر تعرض الاسماك والحياة البرية الاخرى لهذه السموم . ان درجة التسمم والتأثيرات الضارة ستتحدد تبعا لدور الانسان فى حماية هذه الكائنات . لتحقيق هذا الهدف يجب ان تتضافر المجهودات وتتعاون الجهات والهيئات المختلفة العاملة فى مجال المبيدات ومكافحة الافات من خلال برامج منظمة ومحددة . فى هذا المقام لا بد من وضع وقبول الطرق القياسية لقياس التأثيرات الجانبية للمبيدات . سنتناول فى هذا الجزء العلاقات المتبادلة بين الاسماك والحياة البرية والمبيدات وطرق الدراسة والكشف عن مخلفات المبيدات .

* مشاكل المبيدات على الاسماك والحياة البرية :

من اكثر وأوضح نتائج تعرض المبيدات التسمم الحاد الذى يؤدى للموت فى الاسماك والحياة البرية بعد استخدام المبيدات . فى هذا الخصوص يكون المسبب والتأثير معروفين بوضوح لارتباطهما معا فى المكان والوقت . من المؤسف حدوث كوارث رهيبة على هذه الاحياء بدرجات متفاوتة تبعا للانواع السائدة والمبيدات وغيرها من الملوثات التى تعرضت لها . تعريف وتحديد ابعاد المشاكل من اكثر الامور صعوبة طالما ان هناك تداخلات بين العوامل المؤثرة والتى تؤدى الى :

١ - تعرض متعدد لجرعات تحت مميتة من المبيدات للحيوانات خاصة للمركبات عالية الثبات .

٢ - التغيرات الايكولوجية التى تنجم من استعمال المبيدات والصعوبات فى تعريف هذه العلاقات والتداخلات تتأتى من العلاقة والتناسب المباشر فى الوقت والمساحة بين التأثيرات الملحوظة واستخدام المبيد .

٣ - التعاظم او التكبير البيولوجى للمبيدات فى البيئات الملوثة وارتباطها بالمبيدات الثابتة .

* كمثال على هذه المشكلة المعقدة ما يحدث من موت للطيور فى المستنقعات من جراء استخدام المبيدات بعيدا فى زراعات الشعير فى السنوات السابقة (Keith - ١٩٦٦) . الطيور لم تكن تزور حقول الشعير بصفة مستمرة ولكنها تسممت بشكل غير مباشر من المبيدات المستخدمة . اظهرت البحوث ان مياه الرى تحمل المبيد الى المستنقعات حيث تتراكم فى الاسماك التى تتغذى عليها الطيور . الوقت او التأخير الذى يمر بين استخدام المبيد والتأثير الضار يمثل الوقت اللازم

لانتقال المبيد وتراكمه فى السلاسل الغذائية واحداثه للتأثير المميت على الطيور .

* من العوامل الهامة التى تزيد من صعوبة تقييم تأثيرات المبيد على السمك . وغيره من الاحياء البرية عدم توفر المعلومات الكافية عن الوفرة والتوزيع والبيولوجى والايكولوجى لمعظم الانواع . علاوة على ذلك فان وسائل الاحصاء والتعداد الغير مناسبة تساهم لحد كبير فى تصعيب مهمة قياس التأثير الضار للمبيدات على تعداد الحيوانات . عندما يحدث نقص فى تعداد اى كائن حى او اى تأثيرات ضارة غير عادية يكون من الصعب تحديد العوامل المسئولة ومثال ذلك ما يحدث من تأثير ضار من جراء التعرض للـ د د ت والظروف الجوية القاسية على الطيور وقد تسبب هذه العوامل قتل او فشل الطيور فى عمل العشوش ويصبح حل هذه المشكلة صعبا بسبب تداخل العديد من العوامل .

* ان نقص المعلومات عن درجة ومكان استخدام المبيد من اكبر المشاكل فى تقدير العلاقات بين السمك وغيره من الاحياء البرية والمبيدات . من الممكن الحصول على معلومات عن كميات المبيدات التى تنتج سنويا . لكن من النادر امكانية وجود سجلات عن الكميات التى تستخدم فى مكان معين ولا سبيل لذلك الا من خلال استبيان يوزع على المزارعون او الوكالات الخاصة بامان وتداول التعامل مع هذه المبيدات .

*** اهمية مخلفات المبيدات :**

تحليل مخلفات المبيدات يعطى دلالة كمية وكيفية عن درجة التعرض والتأثيرات السامة وتعتبر الاساس لدراسة العلاقة بين المبيدات والاحياء البرية وهى تفيد فى تتبع سقوط واستقرار المبيد والنقل لاماكن بعيدة والإنهيار فى المكونات البيئية بعد التطبيق وكذلك تعتبر دراسة المخلفات ذات اهمية خاصة فى تحديد معدل التناول والتدوير (دورة تواجدها وانتقالها بين المكونات Circulation) والتخزين والانهيار والاخراج الذى تتعرض له بواسطة الكائنات الحية .

* تستخدم بيانات المخلفات بشكل مكثف فى مختلف الدراسات الحقلية التى تتناول تقييم التأثيرات الجانبية من جراء استخدام المبيدات . هذه المعلومات التى يعبر عنها بكميات المبيدات التى تلوث البيئة مثال ذلك ثبات المبيدات فى الغذاء وغيرها من المواد والمستويات التى توجد فى الحيوانات . هذه البيانات تستغل فى تحديد تواجد المبيدات فى الاسماك والاحياء البرية . وهذه المعلومات فى غاية الاهمية فى دراسات الاستكشاف والانتشار الوبائى لاى ظاهرة مرضية وكذلك برامج البحث الميدانية .

* بيانات المخلفات على نفس القدر من الاهمية فى البحوث المعملية . تجرى دراسات على انواع مختلفة من الاسماك والكائنات البرية بداية من اختبارات السمية وحتى الدراسات المعقدة مثل تمثيل المبيدات فى الحيوانات Metabolism وهذه تشمل :

١ - تحليل المبيد المستخدم فى حيوانات التجارب .

٢ – تحليل عينات الاعضاء الحيوية المختلفة والانسجة .

٣ – تحليل البيض ونواتج الاخراج .

حتى تكون هذه الدراسات ذات قيمة يجب تعريف وتحديد كميات المخلفات ونواتج إنهيارها كما يجب ربط نتائج التحليل الخاص بالمخلفات مع الاختبارات البيولوجية لمعرفة العلاقة بين التعرض والتأثيرات الملحوظة .

تعرض السمك والاحياء البرية لمبيدات الآفات

* ١ – مصدر التعرض :

قد تتعرض الاسماك والاحياء البرية للمبيدات بطرق متعددة مثل : استخدام هذه المواد فى اماكن معيشة هذه الاحياء ، حركة الحيوانات الى الاماكن التى يستخدم فيها المبيدات ، انتقال المبيدات بواسطة الهواء والماء والحيوانات الى اماكن لا تستخدم فيها . ان الجزء الاكبر من تلوث الاسماك والاحياء البرية بالمبيدات تنجم من الاستخدام الزراعى لهذه المواد بسبب تنوع المزروعات وتعدد الآفات مما يستوجب تكرار عمليات المكافحة بالمبيدات مما يسبب تكرار تعرض هذه الحيوانات لمختلف انواع الكيميائيات .

* تعتمد الاحياء البرية والاسماك فى وجودها على الغذاء وكذلك الغطاء النباتى مما ادى الى تأثر تعداد هذه الاحياء بمختلف العمليات الزراعية بما فيها المبيدات . هذا الموقف يستدعى التعاون وتضافر الجهود بين البيولوجيون ورجال الزراعة للوصول الى طرق مكافحة مناسبة للآفات باقل ضرر ممكن على الحيوانات غير المستهدفة . هذا يستدعى استخدام اقل المبيدات اضرارا وعند الحاجة فقط لتقليل الفقد الذى تحدثه الآفات .

* تستخدم المبيدات بواسطة العديد من الجهات الحكومية والخاصة تحت رقابة صارمة وشديدة لضمان اتباع التوصيات وتحقيق الاهداف دون اية تأثيرات ضارة على البيئة بشمول اكبر . بالطبع تستخدم نفس المبيدات الزراعية فى مكافحة آفات الغابات ولكن عدد مرات استخدامها اقل عادة معاملة واحدة فى العام فى مساحة اقل من ١٠ ٪ من جملة مساحات الغابات (Benedict and Baker – ١٩٦٣) . التلوث الذى تحدثه المبيدات فى الغابات تؤثر على السكان وكذلك الخيوانات المهاجرة وكذلك تعتبر مصدر لتلوث المجارى المائية . ان استخدام الطعوم السامة لمكافحة القوارض فى الغابات ذات تأثير بسيط بالمقارنة بالمبيدات التقليدية .

تستخدم مبيدات الافات فى مكافحة الافات التى لها علاقة بالصحة العامه خاصة ناقلات الامراض مثل مكافحة بعوض الملاريا والبعوض فى مناطق انتشار مرض النوم حيث تكافح القوارض الناقلة لمسببات الطاعون . ان التوسع فى استخدام المبيدات المتخصصة ابيت Abate من خلال البرامج القومية والعالمية ادت الى تأثيرات كبيرة على الاسماك وكذلك الاحياء البرية وقد ساعد

ذلك فى التغلب على مشكلة مقاومة الافات لفعل المبيدات الكلورينية . تستخدم المبيدات الفوسفورية الآن بمعدلات ٠١ر – ٠,٢ رطل / اكر لمكافحة يرقات البعوض . هذه المعدلات المنخفضة لا بد وان يكون تأثيرها الضار على هذه الاحياء قليلا بالرغم من ان الدراسات الحديثه اثبتت حدوث موت فى البط وغيـــره من الطيـــور المائية عندما استخدم الباراثيون بمعدل ٢ رطل/ اكر .

* ان استخدام المبيدات فى البيوت والحدائق تمثل مصدر اخر لتلوث الاسماك والاحياء البرية تستخدم كميات كبيرة من المبيدات حول المساكن المأهولة بالسكان فى المناطق الريفية والحضرية مما يؤدى الى تعرض العديد من الطيور والثدييات لهذه المبيدات . عندما كانت تستخدم المبيدات الكلورينية ومركبات الزرنيخ والزئبق فى الحدائق حدثت اضرار شديدة على الحيوانات البرية . فى يالعديد من الحالات يصعب تعريف مصادر المبيدات خاصة فى حالة المبيدات الثابتة التى تنتقل من مكان استخدامها الى اماكن اخرى وهذا قد يحدث بواسطة الماء والهواء واجسام الحيوانات من الخارج او الداخل .

* ٢ – انواع التعرض :

قد يكون تعرض الاســماك وغيرها من الاحياء البرية مباشرا او غير مباشرا . التعرض المباشر Direct exposure يعنى التلامس مع الكيميائيات خلال او بعد فترة قصيرة من المعاملة . وهو يستخدم كذلك من جراء التناول او الامتصاص من خلال الملامسة المستمرة والمباشرة مع المبيدات الموجودة فى الهواء او مختلف المكونات البيئية الاخرى . من امثلة التعرض المباشر استهلاك الفئران للطعوم المحتوية على الحبوب المعاملة بالاستركنين او لتنفس العصافير لهواء محتوى على الباراثيون او امتصاص السمك للاندرين خلال الخياشيم .

التعرض الغير مباشر او الثانوى Indirect ينتج عادة من التناول الفمى للكائنات التى سبق تلوثها بالمبيدات هذا النوع من التعرض يحدث عندما يمر المبيد من حيوان لاخر فى السلسلة الغذائية . الكيميائيات التى تعنى بالتعرض الغير مباشر هى تلك التى تتميز بالثبات النسبى العالى وغالبا تشترك نواتج تمثيلها فى هذا التعرض . مثال ذلك مرور الـ د د ت من اناث الطيور الى الصغار خلال البيض .

٣ – درجة التعرض :

يؤثر مستوى ومرات ودوام التعرض للمبيدات على الضرر الذى تحدثه هذه الكيميائيات على الاسماك وغيرها من الاحياء البرية . هذه العوامل تحدد ما اذا كان التعرض سيحدث موت او تأثير طفيف او لا تأثير ليكن معلوما ان تأثير المبيد على الحيوانات لا يتوقف فقط على درجة التعرض ولكنه قد يتضمن كذلك سلوك المبيدات فى الحيوان حيث انها تتعرض للانهيار والاخراج وبعضها مثل الملاثيون تتكسر بسرعة وتفقد سميتها . اذا كانت درجة التعرض معبرا عنها كما سبق القول

بالمستوى والتكرار والدوام اكبر من مقدرة الحيوان على تكسير المبيد وخفض المخلفات ينجم خطر على الحيوان .

* تكون درجة التعرض ذات اهمية خاصة عندما يكون تأثيرات المبيد ذات صفة اضافية او تخزن المخلفات بصفة مؤقتة فى الانسجة . اذا لم تكن الفترة ما بين التعرض المتكرر كافية لحد السماح للحيوان ان يشفى من التأثيرات السابقة للتكرر السابق تحدث التأثيرات الاضافية والضرر للحيوان . اذا زاد معدل التناول عن معدلات الانهيار والتخلص من المبيد الذائبة فى الدهون قد تتجمع كميات زائدة فى الانسجة الدهنية وتصل الى مستويات مرتفعة . هذه التأثيرات قد تحدث عندما يضطر الحيوان لاستغلال الدهون المخزونة المحتوية على هذه التركيزات قد لا تؤثر هذه المستويات المنخفضة بشكل واضح على الحيوانات الملوثة ولكنها قد تكون ذات اهمية كمصدر للمبيدات فى مكونات السلاسل الغذائية .

**** سمية وضرر مبيدات الافات :**

* تعبر السمية Toxicity عن كمية المبيد اللازمة لاحداث استجابة معينة فى الحيوان مثل الموت او اى تفاعل فسيولوجى تحت ظروف قياسية . قد يحدث تعرض الحيوانات للسم بطرق متعددة ويعبر عنها بالجرعة القاتلة Lethal dose للثدييات ، التركيز القاتل Lethal concentration فى حالة السمك والماء او التركيز الفعال .Effective conc فى الماء التى تقيد نمو الصدفة فى الاسماك . التعبير عن السمية قد يكون معنيا بعدد مرات او الفترة التى يتعرض فيها الحيوان للسموم . يستخدم عامل الوقت بشكل واسع عندما تتعرض الحيوانات للمبيدات بصفة مستمرة مثل السمك فى الاحواض المحتوية على المبيد او الثدييات فى حوض يحتوى على غازات منفردة من المبيدات . السمية الحادة Acute toxicity تعنى ما يحدث للحيوان من التعرض للسم مرة واحدة ويقاس تأثيره بعد فترة قصيرة من الوقت . التسمم المزمن Chronic toxicity تحدد بالتعرض المتكرر او المستمر خلال فترة طويلة التى تتراوح من ايام الى سنوات . تفيد بيانات السمية فى تعريف الضرر النسبى لمختلف المبيدات ومقدرتها على قتل او اضعاف الحيوانات . السمية الاساسية inherent toxicity من العوامل الهامة فى تحديد التأثيرات على الاحياء البرية تحت الظروف الحقلية .

* يرتبط قياس الضرر الفعلى للمبيد مع الاسماك والاحياء البرية الاخرى بالتأثير الذى يحدث بعد استخدام المبيد فى الحقل . اذا كانت المبيدات عالية السمية تثبت فى البيئة لعدة ساعات فقط قد يكون ضررها على الحيوانات قليلا إذا كان التعرض للسم قليلا او معدوما . على العكس من ذلك اذا كانت المبيدات متوسطة السمية ولكنها ثابتة فى الحقل وتتراكم فى اجسام الحيوانات يتوقع ان يكون الضرر على الاسماك والحيوانات البرية كبيرا . لا شك فى ان هناك العديد من العوامل المتداخلة التى تحدد الاضرار الحقيقية التى تحدثهاالمبيدات ولكن السمية والثبات هى اكثر هذه العوامل وضوحا .

* الخواص البيئية والحيوية للبيئات والاوساط المعاملة او الملوثة بالمبيدات ذات دور فعال ومؤثر فى تحديد اضرار المبيدات . يختلف تفاعل المبيدات مع الاوساط المختلفة حيث انها ذات قابلية قوية لتحل محل العديد من المكونات البيئية . بصرف النظر عن الخواص الطبيعية الاساسية قد تسبب المبيدات مشاكل خطيرة فى بعض البيئات مثال ذلك ان بعض المبيدات الفوسفورية العضوية قد تستمر طويلا فى بعض البيئات بينما تختفى بسرعة فى اوساط بيئية اخرى . قد توجد مستويات عالية من مخلفات المبيدات الكلورينية العضوية فى بعض البيئات دون ان تؤثر على الحيوانات بينما وجود كميات صغيرة من هذه المركبات فى اوساط اخرى تتركز سريعا وتحدث تأثيرات رهيبة .

* يتطلب الاستخدام المناسب للمبيدات فهم كامل لتأثيرات هذه المركبات فى البيئة وهذه تتضمن التأثيرات الايكولوجية وكذلك حساسية الانواع المستهدفة وغير المستهدفة من الكائنات الحية . عندما تتوفر معلومات مؤكدة عن العوامل المؤثرة على السمية والضرر يمكن اختيار المبيدات التى تحقق مكافحة مناسبة مع اقل الاضرار .

** التأثيرات المباشرة وغير المباشرة لمبيدات الآفات

* للتبسيط نقول ان التأثيرات المباشرة تتضمن التأثير على السمك والاحياء البرية التى تنتج من الفعل السام للمبيدات اما التأثيرات غير المباشرة تتضمن تلك الناتجة من التغيرات البيئية التى تحدث من جراء استخدام المبيدات . التأثيرات المباشرة تتضمن تلك التى تحدث من التعرض الحاد والمزمن للمبيدات وهذه تشمل تلك التأثيرات التى تنجم عن الملامسة المباشرة للمبيدات وتلك الناجمة عن تمثيل المخلفات فى الغذاء والماء . تختلف التأثيرات من الموت او تعطيل الوظائف الفسيولوجية ويدخل فى نطاق هذا النوع من التأثيرات ما يحدث من التعرض الثانوى .

* التغيرات البيئية التى تحدثها المبيدات تؤدى الى التأثيرات الغير مباشرة للمبيدات . بعض انواع الكائنات الحية تستطيع ان تتغلب على هذه الظروف الجديدة وتكيف نفسها ، بينما البعض الآخر والتى لها عادات خاصة ومتطلبات محددة تتأثر باية تغيرات بيئية بسيطة لا خلاف على حدوث التغيرات البيئية بعد استخدام المبيدات اما انعكاس ذلك على الحيوانات قد لا يكون واضحا او مؤثرا . ان استخدام مبيد الحشائش ٤,٢ – د يقضى على غذاء بعض الحيوانات البرية . ومن ثم يقل التعداد بسبب نقص الغذاء كما ان استخدام هذا المبيد على بعض الحشائش يزيد من محتواها من النيتريت مما يجعل هذه النباتات سامة للابقار (Stahler and Whiteheat –١٩٥٠) . وهذه الأمثلة توضح تأثير المبيدات على العلاقة بين النباتات والحيوانات . قد يعمل اسلوب تحديد نمو النباتات المائية على زيادة تكاثر الاسماك كما ان المعاملة لمرة واحدة بالمبيدات ستحدث تأثيرات محدودة على البيئة بعكس الاستخدام المتكرر . احيانا يشير زيادة الطيور الى زيادة الحشرات التى تتغذى عليها ومن ثم يعود التعداد الى ما كان عليه قبل المعاملة بسبب وفرة الغذاء .

* ان تكرار استمرار استخدام المبيدات لا بد وأن يؤدى الى نقص او اختفاء بعض انواع

الكائنات الحية الغير مستهدفة فى المناطق المعاملة بسبب التلوث البيئى .

** دراسات عن المبيدات والاسماك والاحياء البرية :

* نعنى فى هذا الجزء المشاكل التى يحدثها استخدام المبيدات على الاسماك والاحياء المائية . يمكن الوصول لحل هذه المشاكل بصورة مرضية اذا امكن فهم سلوك وتأثيرات هذه المبيدات وعلاقتها بالعوامل البيئية . ان دراسة وتقييم تأثير المبيدات على الاسماك والاحياء البرية تحت الظروف الحقلية عملية معقدة بسبب تداخل العديد من العوامل والمتغيرات فيها . يمكن دراسة عناصر المشاكل الحقلية تحت ظروف محددة ومتحكم فيها فى المعمل لتحديد السمية الاساسية والعلاقات البيئية وتأثير المبيدات اذا لم تجرى هذه الدراسات من خلال النماذج المعملية لمحاكاة ما يحدث فى الحقل تكون نتائج الدراسات مضللة وربما بدون قيمة .

* لحل معظم مشاكل المبيدات يوصى باجراء دراسات حقلية مصغرة فى البداية على بعض نواحى وعوامل المشكلة حتى تتضح الصورة ويمكن تعريف وتحديد بعض النقاط الصالحة للتجارب المعملية والخطوة الثانية تتمثل فى دراسة هذه العوامل تحت ظروف متحكم فيها والثالثة تتمثل فى تحديد امكانية تطبيق هذه الاختبارات المتحكم فيها فى التجارب الحقلية . فى الغالب تجرى سلسلة التجارب معا بداية من الدراسات التوكسيكولوجية والتجارب الحقلية المتعددة وتحليل المبيدات والتغيرات البيئية التى يحدثها استخدام المبيدات .

* التجارب المعملية والحقلية لازمة لتحديد التأثيرات الجانبية الضارة للمبيدات ومنها نحصل على انماط مختلفة من النتائج التى ترتبط مع بعضها واستقراء هذه النتائج جيدا يؤدى للحصول على معنى وتقييم دقيق للضرر .

١ - الدراسات المعملية :

من الشائع اجراء تجارب السمية الحادة للمبيدات على الاسماك والاحياء البرية الاخرى لتحديد التأثيرات القاتلة والتحت قاتلة النسبية . يستخدم فيها حيونات تجارب ذات احجام مختلفة تتراوح من اللافقاريات الميكروسكوبية وحتى الغزلان . يتوقف اختيار الحيوانات على الاستخدام الفعلى للمبيدات وانواع اماكن المعيشة التى تعامل وتوفر الحيوانات وسهولة تربيتها وحمايتها . عادة تقاس سمية المبيدات على اساس ما تحدثه من موت على الحيوانات من جراء تعريضها مرة واحدة لكميات من هذه الكميائيات . الحيوانات التى تستخدم فى تجارب السمية المزمنة Chronic يجب ان توضع فى المعمل فى حيز محكم لفترة طويلة ويقدم لها غذاء فى بيئات صناعية وعند اختيار انواع هذه الحيوانات يجب اخذ الثبات النسبى للمبيدات فى الاعتبار وكذلك البيئة الغذائية فى اماكن معيشة هذه الحيوانات والحساسية النسبية لهذه الحيوانات للمبيد المستخدم والعلاقة بين الحيوان وغيره من الحيوانات فى السلاسل الغذائية . يمكن تحقيق الكثير من اهداف التجارب الخاصة بالسمية الحادة وتحت الحادة باجراء هذه الاختبارات على الحيوانات الاليفة المرباة والموجودة

فى البيئة . الانواع المرباه والمكيفة تحت ظروف الحظائر تكون اقل تأثرا للضغوط الخاصة بالحيز المحكم بدرجة اقل من الحيوانات البرية فى الاسر . يسمح باجراء دراسات اكثر عمقا عن التأثيرات على السلوك الفسيولوجى .

* المعلومات الاساسية عن التأثير التحت مميت للمبيدات على السلوك والتناسل والفسيولوجى الخاص بالحيوانات البرية يمكن الحصول عليها بشكل افضل وادق تحت الظروف المعملية . من اهم مميزات هذه التجارب المعملية امكانية تطبيقها واعادة التحكم فيها كما يمكن تقدير استجابة حيوانات الاختبار وتسجيل هذه الاستجابات بسهولة ويسر كما يمكن اخذ العينات لتقدير مخلفات المبيدات بامكانيات كبيرة . العدد الضخم من الاختبارات والملاحظات الضرورية والمطلوبة للحصول على المعلومات الخاصة بالسمية تتطلب تجارب تحت ظروف متحكم فيها وهذه لا تتأتى إلاّ فى المعمل .

* من المعلوم والشائع ان تجارب السمية الحادة والمزمنة على الأسماك والاحياء البرية تصمم بما يتمشى مع الطرق القياسية المتعارف عليها فى التوكسيكولوجى وعلم الصيدلانيات . ليس من الضرورى تشريح الحيوانات المطلوبة فى الطرق الاخرى . هذه التجارب تعكس الاضرار التى قد تنجم من جراء استخدام المبيدات فى الحقل .

٢ - الاختبارات التى تحاكى الحقلية Simulated :

التجارب التى تحاكى ما يحدث فى الاختبارات الحقلية تصمم بحيث تقارب الموقف والظروف الحقلية وهى تساعد فى تكامل النتائج الخاصة بالدراسات المعملية والحقلية . فى هذه الاختبارات يمكن تعريض الحيوانات للمبيدات لفترة تقترب من التعرض الفعلى المتوقع تحت ظروف التطبيق الفعلى واعطاء الحيوانات مساحة كافية تمكنها من التغذية والحركة العادية . الدراسات تحت الظروف المقلدة للحقل تفيد فى دراسة رد فعل الحيوانات للأنواع المختلفة من التعرض للمبيدات مثل التعرض للطعوم السامة أو المبيدات المحببة او تلويث التربة والمجموع الخضرى . يمكن تقييم هذه العوامل بطرق مختلفة مثل تأثير اللون على طرد وتقليل استهلاك الحيوانات للطعوم وتأثير وجود الجريش او الماء على معدل قبول طعم الحبوب السام او المبيد الحشرى المحبب .

* تحديد العوامل التى تؤثر على ثبات وسلوك وتأثير المبيدات بعد المعاملة ذات اهمية كبيرة تتطلب التجارب التى تحاكى الحقلية امكانيات تمكن من التحكم فيها وتعظيم دور المتغيرات الهامة التى تؤثر على حدوث اخطار المبيدات فى الحقل . لذلك تجرى هذه التجارب تحت ظروف طبيعية وبيولوجية معروفة لتحديد تأثير المبيدات على مختلف انواع البيئات واماكن المعيشة .

٣ - الاختبارات الحقلية :

تقسم الاختبارات الحقلية الى ثلاثة مجموعات رئيسية هى الاستكشاف والحصر Research والبحث Surveillance and monitoring :

(أ) الاستكشاف Monitoring :

تتضمن برامج الاستكشاف الخاصة بالسمك والحياة البرية القياس والكشف الدورى لمخلفات المبيدات فى انواع الحيوانات المختارة وعلاقتها بالبيئة . الغرض من هذه البرامج تحديد ما اذا كانت درجة التلوث بالمبيدات تتغير مع مرور الوقت وتحديد الحيوانات التى تحتوى اجسامها على كميات عالية من المخلفات كذلك تحديد المناطق التى بها تلوث عالى . فى حالة الكشف عن مخلفات عالية يجب دراسة ما اذا كانت هذه المستويات العالية ستحدث اضرارا عالية على الحيوانات . لا يناسب الناحية العملية تحليل اعداد كبيرة من العينات لذلك تختار مفاتيح او ممثلات من الحيوانات لتجارب الاستكشاف . ينبى الاختيار على معنوية التواجد البيولوجى للحيوانات فى النظام البيئى ووفرته وتواجده المستمر كلما كان هناك حاجة لاخذ العينات . فى برامج الاستكشاف الوطنية يجب ان تتضمن نوع او نوعان من كل من الطيور والثدييات وسمك المياه العذبة وسمك البحر واحد القشريات . اما برنامج الاستكشاف على المستوى الاقليمى تتضمن أنواعاً مختلفة من العينات

* تطور برامج الاستكشاف لقياس التذبذب فى مستويات المبيدات فى بعض الانواع الحيوانية .مثال ذلك ما جرى فى كاليفورنيا بامريكا حيث اجرى مشروعان الاول تناول استكشاف معنويات مخلفات المبيدات فى الطيور والثانى هو قياس المخلفات فى بيض الطيور المائية والجارحة .

(ب) الحصر Survey :

هناك نوعان من برامج الحصر .. الاول يتضمن تقييم التأثيرات الجانبية التى تحدث من استخدام المبيدات والثانى يتضمن البحوث الخاصة بتقدير أسباب الموت عند استخدام المبيدات . عادة تجرى تجارب الحصر فى المناطق التى تطبق المبيدات فعلا وهى تجرى كعملية مكملة ومتناسقة مع كافة الآفات وهى تؤكد للعامة ان اعتبارت تقييم الضرر ماخوذة فى الحسبان بصورة جدية . تؤدى هذه الدراسات الى العناية والحرص فى اختيار المبيدات والتطبيق المناسب مما يقلل من الضرر . هذه الاختبارات والتقييم تتضمن : ١) استخدام الحيوانات فى الاقفاص لتحديد التأثيرات البيولوجية لاستخدام المبيدات ، ٢) ملاحظات عن التأثير على الحيوانات البرية ، ٣) جمع وتحليل العينات الحيوانية لتقدير مستوى المخلفات .

فى تجارب الحصر لتحديد سبب الموت فى الحيوانات البرية تتطلب تصميم الاختبار المبنى على اساس فرض ان المبيدات هى السبب لكن يجب بل من الضرورى اخذ المسببات الاخرى للموت فى الاعتبار . الفقد بسبب الاصابات المرضية قد يتداخل مع المبيدات المسببة للموت بسبب تشابه الاعراض على الحيوانات التى تسممت . ان فقد وموت الطيور والثدييات بسبب الأخطار الميكانيكية وموت الاسماك بسبب نقص الاكسجين مجرد امثلة للعوامل الاخرى الواجب اخذها فى الاعتبار .

جـ) البحث :

تجمعت العديد من المعلومات عن تأثيرات المبيدات على الاحياء البرية من الدراسات الحقلية والمعملية التى اجريت . تجرى الدراسات التوكسيكولوجية والبيوكيميائية والفسيولوجية فى المعمل اما البحوث الحقلية تأخذ فى الاعتبار موت الاسماك والاحياء المائية لاستخدامات معينة من المبيدات . تجرى البحوث الحقلية كذلك لدراسة التأثيرات الجانبية للمبيدات وتوزيع وسمية المبيدات فى الاوساط البيئية (Keith and Mulla – ١٩٦٦) . تفيد المبيدات المعلمة إشعاعياً فى هذه الدراسات خاصة تلك التى تتعلق بتوزيع المبيدات فى المكونات البيئية المختلفة . فى احدى الدراسات التى استخدم فيها ال د د ت المشع فى ذرة الكلور (كل٣٦) فى احد المستنقعات ثم تقدير تواجد المبيد فى النباتات والحيوانات والتربة والماء لالقاء الضوء عن انتشار وتوزيع المبيد فى هذه البيئة . حدث انتقال سريع للمبيد فى النباتات والحيوانات ومن المثير للدهشة تواجد مستويات عالية من ال د د ت فى النباتات الى تتغذى عليها الاسماك وصلت الى ٤٥ – ٣٤٥ جزء فى المليون . كذلك تجرى دراسات عن تأثير المبيدات على سلوك الحيوانات والوظائف الفسيولوجية وديناميكية وحركية مجموع الحيوانات .

أخذ العينات لتحليل مخلفات المبيد :

* كل بحث او دراسة عن المبيدات ذات اهداف خاصة يمكن تحقيقها بجمع وحفظ انواع مناسبة من العينات . يعتمد طبيعة العينات التى تجمع على طبيعة العلاقة بين المبيدات والأحياء البرية كما ان التداول المناسب ضرورى لتفادى تلوث العينات او انهيارها او أى فقد فى المبيدات . فى معظم البحوث المتعلقة بتحديد التأثير القاتل للمبيدات يستخدم عدد قليل من حيوانات التجارب كما يكون التعريض للمبيدات مباشرا ومؤكدا . يتضمن التقييم اخذ عدد محدود بل اقل ما يمكن من العينات للتأكد من وجود المبيد كذلك اخذ الانسجة من عدد قليل من الحيوانات بينما تؤخذ عينات عديدة من المكونات البيئية المتوقع حدوث تلوث فيها من جراء استخدام المبيدات . اذا لم يكن وجود المبيد واضحا تجمع عينات من الافراد التى تأثرت والتى لم تتأثر بالمبيد من نفس النوع لجعل امكانية مقارنة مستويات المخلفات متاحة . يمكن استخدام عينات اضافية لتقدير الاهمية النسبية للمبيدات والقاء الضوء على العوامل المرضية التى سببت الموت .

* يعنى التقييم فى التجارب المصممة لهذا الغرض العمل على نوع واحد او قليل من الانواع المختبرة التى تتعرض بشكل واضح او يكون تأثيرها واضحا بالمبيد مثال ذلك فى حالة الموت المباشر تجرى التقييم فى العادة على مبيد واحد فقط . بالنسبة لبرامج التطبيق الفعلى يجرى العمل بمبيد واحد فقط هو الذى يؤخذ فى الاعتبار بينما التأثير الذى يحدثه يقاس فى مساحات واسعة قد تحتوى على عدد كبير وانواع مختلفة من الحيوانات . متطلبات تقييم الاداء وخطورته لا تتضمن دراسة التأثيرات على الاسماك والحياة البرية . فى العادة تؤجل المعاملات حتى تصبح انواع الافات اكثر حساسية بما يحدد مواعيد التطبيق . معظم برامج التقييم تتضمن جمع البيانات قبل وبعد

التطبيق الفعلى . اذا لم يحدد ميعاد التطبيق والاماكن التى ستعامل لا يمكن بل يصعب اجراء تقييم التأثيرات الجانبية للمبيدات . من الاهمية تحديد ومعرفة المعلومات الخاصة عن مكان وحجم المساحات الى ستعامل لوضع وتصميم تجارب التقييم خاصة عندما يراد نتائج معنوية احصائيا . فى هذه الحالة تؤدى معاملة اماكن لم تحدد من قبل الى الفشل فى الحصول على النتائج المطلوبة او ذات قيمة احصائية محدودة .

* دراسات التلوث البيئى قد تؤكد من خلال تقييم موت الاحياء البرية ومعرفة تأثير المبيدات على تناسل الحيوانات او السلوك او بالتراكم الزائد للمخلفات فى الحيوانات . عادة يكون هناك دافع لدراسة تأثيرات العديد من المبيدات ومن ثم تكون هناك حاجة للعديد من انواع التحليل . حيث ان التلوث قد يحدث فى مدى واسع من المواد الحيوية والطبيعية فان الجمع الأولى يفيد فى وصف طبيعة ودرجة التلوث . المبيدات ذات قابلية لبعض الاوساط وتثبت طويلا فى البعض عن الاخر . الكائنات الحية التى ترتبط او توجد بالقرب من المواد الملوثة تتعرض بدرجة كبيرة للمبيدات . المعلومات الخاصة بالعلاقات الحيوية تفيد كثيرا فى تعريف اى من المكونات البيئية يجب اخذ عينات منها . فى المقابل فان المخلفات فى الحيوانات والمكونات البيئية تعطى نتائج توضح العلاقات البيئية المشكوك فيها كما تعطى بيانات جديدة عن السلاسل الغذائية والظواهر الحيوية .

* ان اهداف معظم برامج الاستكشاف البيئى تتمثل فى تسجيل التغيرات فى مستويات المبيدات التى تحدث خلال فترة زمنية معينة . يجب توحيد وقياسية طرق جمع وتداول العينات لدرجة تمكن من اخذ عينات ممثلة للواقع وتحقق اهداف الدراسة . حيث ان العديد من المشتغلين بالبرامج قد يشتركوا فى اخذ العينات لذلك كان من الضرورى وضع تعليمات محددة واضحة فى هذا الخصوص .

أ) التخطيط لبرنامج العينات :

* يجب ان يسبق اخذ العينات وضع برنامج دقيق لتحليل العينات تتضمن الاهداف المحددة بناء على حصر للدراسات السابقة عن العلاقة بين المبيدات والحياة البرية . لتحقيق الاهداف يجب ان يشارك فى وضع الخطة متخصصون فى مختلف الفروع بما فيها الكيمياء والتوكسيكولوجى والامراض والبيولوجى . من اهم محددات تنفيذ الخطة الموضوعة مدى توفر الميزانيات ومقدرة المعامل لتداول وتحليل العينات . يحدد عدد العينات الممكن تحليلها العديد من العوامل التى تتضمنها اى دراسة مثل انواع الحيوانات والجنس والعمر . كذلك الانسجة التى تفحص وانواع الاوساط البيئية وتوالى وتكرار اخذ العينات . فى الغالب يتم اخذ العينات خلال فترات زمنية محدودة لان توفر هذه العينات يتوقف على ميعاد التطبيق وهجرة والنشاط الموسمى للكائنات ومواسم التكاثر وتحلل الجثث بعد الموت . حيث ان هناك فترة ما بين اخذ العينات واستكمال التحليل يصبح مطلوبا ان تجمع عينات اضافية زيادة عما هو مخطط بحيث تخزن وتحفظ وقد تحلل اذا جد جديد او دعت ظروف معينة لذلك . يجب ان تكون طرق اخذ العينات وخطوات تجهيزها

قياسية وكاملة لأية تجارب مستقبلية . ان بحوث التأثير القاتل للمبيدات على الاسماك والاحياء البرية الاخرى تتطلب فعل لحظى وتصرف سريع ويمكن الاستفادة من التجارب السابقة .

* تؤخذ العينات بصفة متكررة للحصول على بيانات عن المخلفات التى تنتج من عمليات تطبيق المبيدات . من العجيب ان البيانات والتقارير الصادرة من مشروعات التأثير الجانبى للمبيدات على الاسماك والطيور قليلة للغاية كما ان هناك نقص فى طرق تقييم هذه الآثار . من حسن الحظ ان بيانات المخلفات الناجمة من التجارب المعملية والحقلية كافية فى معظم الحالات بما يمكن من استنتاج التأثيرات الكلية للمبيدات . يفضل اجراء عمليات التحليل على العينات المجموعة مباشرة او خلال فترة قصيرة من الجمع والتجهيز للوقوف اولا باول على موقف المخلفات وتحديد الخطوة التالية بدلا من الجمع العشوائى والمتكرر وما يتطلبه من جهد ووقت ومال .

ب) احجام العينة :

عدد العينات وكميتها التى تجمع يتوقف على عدد التحاليل التى ستجرى ومستوى التلوث فى العينة والمستوى المطلوب للتقدير والكشف عن المخلفات . كل طريقة للتحليل الوصفى الكمى للمبيد تتطلب وجود حد ادنى من كمية المادة الكيميائية محل التقدير . عندما يتقرر تحليل المادة بعدة طرق او فى معامل مختلفة يجب ان يتناسب حجم العينة مع متطلبات الطرق والمعامل كما يجب ان تجهز بتجانس دقيق قبل تقسيمها الى تحت عينات للجهات المعنية . العينات الحيوانية يجب ان تحتوى على الاقل من ٢ – ٢٥ جرام وفى بعض الحالات تكون عينة مقدارها ١ جم دهن مطلوبة . عينات النبات والتربة والراسب وهى سهلة الحصول عليها يجب ان تحتوى على ١٠٠ – ٥٠٠ جم على الأقل . عادة يؤخذ واحد جالون ماء للكشف عن مخلفات المبيدات وهناك طرق عديدة لجمع عينات الماء .

* اذا كانت ستجرى عدد قليل من التحليلات يكون مطلوبا تجهيز من ٥ – ١٠ تحت عينات من نفس المواد لكل عينة واحدة للتحليل . النتائج المتحصل عليها تمثل متوسط التلوث فى كل تحت عينة فردية ولكن الاختلافات بين مستويات المخلفات لا تقدر بهذا الاسلوب الذى لا يناسب من الناحية العملية فى تقييم تأثير المخلفات على وظائف الكائنات الحية كل على حدة ولكنه يفيد فى وصف متوسط المخلفات فى السمك والاحياء البرية والبيئات الموجودة فيها . اذا كان العينات تجمع بهدف تعريف الكائنات الميكروسكوبية فى الماء او تقدير الوزن الجاف لمحتوى الدهن فى الانسجة يكتفى بجمع عينة مزدوجة لهذه الأغراض وكذلك تقدير المخلفات .

جـ) اوزان العينـــة :

* يختلف المحتوى المائى للعينات المائية والتربة من موسم لاخر تبعا لظروف العينة وفترة التخزين . مستويات المخلفات يجب ان تحدد على اساس الوزن الجاف لمادة العينة او محتوى الرطوبة للعينات الطرية . هذه تمكن من المقارنة المقبولة للمخلفات فى العينات ذات المحتويات المختلفة من الرطوبة .

العينات التى تجمع بغرض تقدير محتوى الرطوبة يجب ان توزن وقت الجمع على فترات متتابعة حتى يثبت الوزن ولا يحدث فيه اى فقد . حيث ان محتوى الرطوبة قد يتغير خلال التخزين فان اوزان العينات يجب ان تؤخذ مباشرة قبل التحليل .

* مخلفات المبيدات فى العينات الحيوانية تحسب على اساس الوزن الجاف للعينات اذا كان سيعبر عنها بجزء فى المليون . بينما فى التدريب والتقدير العملى لمستويات المخلفات فى انسجة الحيوانات الفقارية تحسب المخلفات على اساس الوزن الطرى . اذا اخذ اوزان العينات من العينات الطازجة سيحدث اختلاف بسيط فى محتوى الرطوبة ومن ثم لا يتأثر مستوى المخلفات . اذا كان كل الحيوان او كل الاعضاء الداخلية مثل مخ الطائر سيتعرض للتحليل يمكن التعبير عن مستوى المخلفات الموجودة بوحدات ميكروجرام لكل عينة بصرف النظر عن وزن العينة . عند تمثيل ومناقشة النتائج يشار الى ان اساس الحساب هو وزن العينات . يفيد اخذ اوزان النباتات والحيوانات وغيرها من المكونات البيئية عن وضع الوفرة النسبية او كتلة مادة العينة الموجودة فى الوسط . هذه الأرقام ذات اهمية خاصة فى تقدير الكمية الكلية من المبيدات فى النظام البيئى .

د) تناول وتخزين العينة :

* يفضل اجراء تشريح الحيوانات فى المعمل حيث الامكانيات متاحة . فى بعض التجارب الحقلية يكون من الافضل اخذ العينات الخاصة المطلوبة للتحليل فقط . معظم العينات يمكن تجهيزها بكفاءة وتعبأ فى الحقل بشرط العناية بخطوات التجهيز . يجب التخلص من الماء الزائد الموجود على سطح العينات قبل التجهيز . يجب الحرص فى حالة العينات من البيئات المائية بما فيها النباتات والرواسب واللافقاريات للتأكد من عدم جفافها قبل وزن العينات المطلوبة للتحليل . بعد الوزن يجب تحزيم كل عينة منفصلة فى رقائق الالومنيوم او اى اناء زجاجى مناسب . أى مخلفات تنقل للالومنيوم او الزجاج يمكن استرجاعها بسهولة بالمذيبات العضوية . العينات الملفوفة فى الالومنيوم يمكن ان توضع فى اكياس بلاستيكية او ورقية للتخزين . يجب الحرص لمنع العينات من الملامسة المباشرة للبلاستيك او الورق او السطوح الشمعية خلال التخزين حيث ان المخلفات قد تتجمع على هذه السطوح وقد يصعب استرجاعها . المواد البلاستيكية والشمعية قد تمسك وتدمص على العينة ومن ثم تتداخل مع التحليل .

* من افضل الطرق لتعريف العينات وضع بطاقات مغطاة برقائق الالومنيوم وتكتب البيانات بالقلم الجاف او الرصاص لانه يدوم تحت ظروف الرطوبة . الحيوانات الكاملة او الاكياس المحتوية على العينات تعرف بعلامة من الورق المقاوم للماء او ببطاقة يكتب عليها بالقلم الرصاص وهذه وضع داخل كيس اخر لحماية البيانات من الرطوبة . يجب وضع البيانات فى وضع يمكن من قراءتها مع تجميد العينة . دون اللجوء للتسييح . يجب اعداد العينات المجمدة وتجهيزها بعد الجمع قدر الامكان . الحرارة العالية والاشعة فوق البنفسجية والتحلل البيولوجى قد تؤدى الى انهيار معظم مبيدات الآفات . فى الحقل يجب وضع العينات فور الحصول عليها فى صناديق معزولة محتوية

على ثلج او ثانى اكسيد الكربون او فى ثلاجة متنقلة . حتى نضمن عدم انهيار العينات وتعرضها للفقد يجب ان تحفظ فى درجة حرارة – ٢٠ °م او اقل . لا يحدث اى فقد مؤثر للمبيدات الكلورينية العضوية على هذه الدرجة اما العينات المحتوية على المبيدات الفوسفورية يجب تحليلها فورا كلما كان ذلك ممكنا لأن المخلفات ستختفى نهائيا اذا حفظت العينات لعدة اسابيع حتى تحت ظروف التجميد او التبريد .

* يجب جمع عينات الماء فى اوانى من الصلب الذى لا يصدأ او الزجاج لأن الاوانى البلاستيكية قد تمتص بعض المبيدات لذلك يجب عدم استخدامها لان استرجاع العينات من العبوات صعب ان لم يكن مستحيل . فى العادة لا تضاف مواد حافظة لعينات الماء ويجب تغطية اغطية الاوانى وتبطينها برقائق الالومنيوم .

* اذا كان الطين يتوقع احتواؤه على المبيدات الفوسفورية العضوية يمكن تجميدها وهى مبتلة لتأخير الإنهيار . العينات المحتوية على المركبات الكلورينية العضوية يمكن تجفيفها بالهواء فى كابينة مظلمة . لا يحدث فقد او تغير فى المخلفات اذا خزنت بعد الجفاف فى ظروف تبريد تحت تجميد . يمكن تقسيم الطين فى عامود ويقسم الى تحت عينات تمثل اعماق مختلفة وهى مجمدة .

* ليس عمليا تجميد او تبريد العينات فى الحقل بل يمكن استخدام كبريتات الصوديوم اللامائية لتجفيف معظم العينات ومنع الانهيار البيولوجى او الكيميائى . بعد تجهيز العينات جيدا وتخزينها تحت التبريد وفى ظروف الظلام يمكن خلطها مع كبريتات الصوديوم وبذلك يمكن تركها لعدة اسابيع بدون تبريد . بناء على محتوى الرطوبة فى العينات يتوقف نسبة كبريتات الصوديوم لوزن العينة من ١ – ٥ جزء كبريتات صوديوم الى واحد جزء من العينة لتجفيف العينات . العينات الدهنية يوصى باستخدام مخلوط من نسب متساوية من كبريتات الصوديوم والسيليت . يفيد استخدام خلاط كهربى صغير لخلط كبريتات الصوديوم مع المادة كما يمكن الخلط بهون ومكبس . يجب الحرص فى وزن العينة وكبريتات الصوديوم حتى تكون النسب متوازنة خاصة اذا كانت العينة الاساسية ستقسم بعد ذلك الى تحت عينات .

* يمكن استخدام ورق الترشيح او شرائح زجاجية او معدنية لجمع رواسب المبيدات خلال التطبيق ثم توضع بعد ذلك فى زجاجات تحتوى على مذيبات عضوية مناسبة . بعد وزن البلانكتون واللافقاريات الصغيرة توضع مباشرة فى المذيبات . المذيبات يجب ان تكون من نفس النوع والنقاوة التى تستخدم فى استخلاص المبيدات لاجراء التحليل . لتفادى انهيار المبيدات يجب الحرص بجعل العينات فى ظروف تبريد وبعيدا عن ضوء الشمس خلال النقل والتخزين ..

هـ) العينات الحيوانية :

* الطرق المتعارف عليها لجمع الفقاريات واللافقاريات تناسب جمع العينات الحيوانية لتقدير المخلفات . لا يمكن التوصية باستخدام السموم فى جمع الحيوانات لانها تحدث تعقيدات كبيرة فى

تقييم تواجد وتأثيرات المبيدات . لقد تم تقييم استعمال الروتينون لجمع الاسماك وقد اعتبر مناسبا فى جمع العينات (Tom pkins – ١٩٦٦) . ان اصطياد الحيوانات ووضعها فى الاسر وتهيئتها للاختبارات التوكسيكولوجية تتطلب تصريحا خاصا من السلطات المختصة .

* يجرى تحليل المخلفات لتعريف انواع المبيدات فى الحيوانات وتحديد الكميات الموجودة فى كل الحيوان او فى انسجة خاصة . يجب ان يؤخذ فى الاعتبار ان اهداف برنامج العينات والمبيدات يجب ان تعتبر فى تحديد انواع وعدد عينات الانسجة التى تفحص . يوصى بتحليل ستة الى عشرة حيوانات فقارية كبيرة لتحديد الاختلافات فى مستويات المخلفات فى النوع الحيوانى . فى حالة مفصليات الارجل لا تناسب عينة واحدة لصغرها ولكن يجب ان تكون العينة مركبة من عدة افراد .

* من المطلوب تحليل وتقدير المبيدات فى كل جسم الحيوان لتقدير الكميات الفعلية التى تتراكم فى الحيوان خاصة فى حالة الدراسات المختصة بتقييم انتقال المبيدات فى ملوثات السلاسل الغذائية . يمكن هرس الحيوان كله وتجهيز مستخلص للتحليل . يمكن تجهيز الطيور الميتة فى الحال لتحليلها . يجب ازالة الجلد من الطيور والثدييات قبل تجهيز العينات ويجب الحرص بحيث يسترجع اى دهن تحت الجلد او ملتصق به خلال التحليل حيث يتوقع احتوائها على المبيدات . من الصعوبة تحليل الحيوانات الكبيرة او جميع الحيوان ويستعاض عن ذلك بتحليل عينات مركبة تحتوى ٥ جم من كل من القلب والكبد والكلية والعضلات والمخ . اذا امكن تقدير المحتوى الكلى للدهون يمكن الاستفادة من تحديد مستويات المبيدات بما يعطى فكرة عن كمية المبيد التى يحتويها الجسم . تستخدم هذه الطريقة فى المبيدات الكلورينية الثابتة الذائبة فى الدهون . عادة تزال القناة الهضمية من حيوانات التجارب قبل اجراء التحليل لكل الجسم لتحديد تراكم المبيد وعلاقته بمحتوى الغذاء من المبيدات . يجرى هذا التكنيك لتفادى تعريف المبيدات فى القناة الهضمية على انها منتجات متراكمة فى الجسم .

* التعرض للمبيدات غالبا ينعكس على شكل المخلفات الموجودة فى الانسجة المختصة . مثال ذلك ان التركيز العالى من الـ د د ت فى المخ يرتبط بموت او ضعف حيوانات التجارب التى تتعرض لهذا المركب (Stickel et al – ١٩٦٦) . الأنسجة الدهنية تعتبر دليلا حساسا لتراكم المبيدات الكلورينية فى الحيوانات . المخلفات فى الانسجة الدهنية تعكس درجة ووقت التعرض ولكنها ليست مؤشرا على التأثيرات الموهنة على الحيوانات المعرضة . تحليل العضلات والانسجة الدهنية تفيد فى الدراسات الخاصة بتأثير المبيدات على الصحة العامة . يمكن مقارنة المخلفات الموجودة فى دهن الحيوانات البرية بقيم التحمل الموضوعة Tolerance فى اللحوم والطيور الداجنة . مستويات المبيدات فى الانسجة العضلية التى يتناولها الانسان ذات قيمة خاصة عند تحديد الضرر على الصحة العامة من تناول الأسماك والاحياء البرية الملوثة .

* دور الدهن كوسط محتوى على المبيدات المترسبة ذات اهمية كبيرة للغاية تلقى جميع

الاعتبارات فى برامج تحليل الانسجة . هذه الانسجة من احسن الدلائل على تلوث الحيوان بالمبيدات الكلوروتينية . اذا كان عدد التحليلات محدودا وهدف البرنامج تحديد وجود هذه المبيدات فى الانسجة يعتبر تحليل عينات الدهن مناسبا جدا . قد تكون هناك صعوبات فى الحصول على كميات كافية من الدهون فى بعض الحيوانات لتحليل المخلفات . مطلوب عينة لا تقل عن ٥ جم او اكثر للكشف عن مخلفات المبيدات اذا كانت منخفضة .

* مخلفات المبيدات الذائبة فى الدهون فى انسجة الحيوانات يمكن التعبير عنها باجزاء فى المليون على اساس وزن النسيج او وزن الدهن فى ذلك النسيج . قد تختلف المستويات فى علاقة طردية مباشرة مع وجود الدهن . هناك اختلافات كبيرة فى محتوى الدهن فى الانسجة بين اعضاء الجسم المختلفة تبعا لظروف ونوع الحيوان . ان ربط المخلفات بالدهن تعطى مقارنة جيدة عن مخلفات المبيدات الموجودة فى مختلفة الانسجة او فى الحيوانات المختلفة وهذه العلاقة افضل من تلك الموجودة بين المبيدات ووزن النسيج الدهنى فى السمك . او دهن عضلات الصدر فى الطيور . هذا يرجع للاختلاف بين مقدرة نوعى العينات على احتواء المبيدات . النسيج الدهنى قد يحتوى على ٥٠ - ١٠٠ ٪ دهن بالوزن بينما النسيج العضلى لا يزيد محتواه من الدهن عن ٥ ٪ . لذلك نتوقع احتواء النسيج الدهنى على اكبر كمية من المبيدات الكلورينية مقارنة بالعضلات لذلك يكتفى بالكشف عن المبيدات فى الدهن سواء فى النسيج الدهنى او فى النسيج المأخوذ من الحيوانات .

* قد يحتوى مح البيض على المبيدات التى تذوب فى الدهون والتى كانت موجودة قبلا فى جسم الاناث . لذلك يعتبر تحليل مح البيضة ذات اهمية خاصة فى الدراسات التى تتعلق بتأثيرات المبيدات على تكاثر الطيور . قد يكون تحليل البيضة كلها ذات معنى كبير فى حالة البيض المجموع فى الاطوار المتأخرة من التحضين . يمكن فصل المح والبياض من البيض المجمد اذا سمح للبيض بالتسييح قليلا . ان فقد الرطوبة يمكن اخذه فى الاعتبار فى حالة البيض المجمد تحت ظروف التخزين لكن يجب العناية بالوزن . يمكن حفظ البيض دون فقد يذكر فى الرطوبة عندما تحفظ فى اكياس بلاستيك كل بيضة على حدة على ان يشفط ويفرغ منها الهواء وتخزن على درجة حرارة - ١٠°م او اقل (نشرة خاصة للباحث L. A. Woods . Jr.) .

* فى برامج استكشاف مخلفات المبيدات يمكن استغلال المواد المجموعة فى دراسات اخرى ومثال ذلك يمكن تقدير المخلفات فى البومة المائية بتحليل عضلات الاجنحة . تؤخذ الاجنحة من الطيور التى تصطاد فى موسم الصيد لتحديد اعمار مجموع الطيور . النتائج التى تسفر عنها برامج التحليل هذه تعتبر ذات قيمة فى تقدير تلوث المبيدات للحيوانات على المستوى القومى . عند تقدير التسمم بالمبيدات الفوسفورية يكون من الاهمية تقدير التعرض النسبى عن طريق الجلد او الفم . تحليل الريش والقنوات الهضمية للطيور اثبت ان تعرض الطيور للباراثيون عن طريق الجلد والفم كانا السبب وراء موت العديد منها . يتم الكشف عن وجود الباراثيون بعد اربعة ايام من التعرض

* استخدم قياس تثبيط الكولين استريز فى دم ومخ الطيور والثدييات كذلك فى مخ السمك بنجاح لتحديد درجة تعرض حيوانات التجارب للفوسفات العضوية ومبيدات الكاربامات . من المحتمل ان يقدم تحليل انسجة المخ افضل الدلائل عن التأثير القاتل . يمكن تجميد الامخاخ وهبرنة الدم دون التداخل مع اختبارت تثبيط الكولين استريز . تتخذ احتياطات خاصة ومجهودات كبيرة للحصول على عينات طازجة كذلك فى الحفظ السريع للعينات .

* معظم مبيدات الحشائش معروف عنها انها لا تسبب الموت او اية تأثيرات اخرى مباشرة على الاسماك والاحياء البرية عندما تستخدم تحت الظروف المناسبة والعادية للتطبيق . اما استخدام بعض مبيدات الحشائش الا روماتية لمكافحة النموات المائية تحدث موتا كاملا لجميع الاسماك واللافقاريات المائية فى المساحات المعاملة . لذلك يجب حفظ العينات التى يعتقد ان فيها مبيدات حشائش عطرية تحت ظروف تبريد ثم تحلل سريعا . مثال ذلك فى حالة مبيدات الـ ٤,٢ – د يجب ان تبرد فى الحال وتحلل سريعا كلما امكن .

* تستخدم المخلفات الموجودة فى الكلى والكبد فى تقدير تعرض الحيوانات البرية للمعادن الثقيلة مثل الزئبق والرصاص والزنك والنحاس . عادة يتم تحليل خياشيم السمك اذا كان هناك شك فى وجود المعادن الثقيلة . اذا كان من الضرورى تخزين العينات ينصح بتجميدها .

* عند تعرض الحيوانات الغير مستهدفة لمبيدات القوارض مثل المركب ١٠٨٠ « استركنين » وفوسفيد الزنك من خلال التعرض المباشر يتناول الطعم السام او بطريقة ثانوية من خلال التغذية على حيوانات سبق ان اكلت طعم ملوث بالمركب . فى معظم الاحوال تستخدم محتوى الغذاء من المعدة او الحوصلة او جزء من القناة الهضمية للتحليل للكشف عن المخلفات . يعتمد التشخيص فى حالة التسمم بفوسفيد الزنك على الكشف عن غاز الفوسفين . يفضل فحص جميع اجزاء الحيوانات الميتة وكذلك الجثث كاملة منعا لفقد الغاز . اذا كان ذلك غير عمليا يفضل وضع الحوصلة الغير مفتوحة والقونصة أو المعدة فى اناء محكم القفل حتى الفحص والتحليل .

* تحدث ازالة للاستركنين من جسم الحيوان بسرعة بواسطة الكبد . يمكن الكشف عن لمخلفات فى عينات الكبد ولكن تحليل محتويات المعدة او الاحشاء تفيد فى تشخيص مسبب تسمم اذا كان وجود الاستركنين مشكوك أو متوقع فيه . استخدمت عينات العضلات والقلب الكلية وانسجة الكبد للكشف عن التسمم بمركب ١٠٨٠ . يجب تجميد العينات المحتوية على بيدات الفئران خلال التخزين .

و) عينات الماء :

* يلعب الماء دورا هاما فى التلوث العرضى للبيئات الغير معاملة ، حيث يعتبر وسيلة فعالة قل المبيدات من الاماكن المعاملة (١٩٦٤) . معظم الانهار والمجارى المائية وقنوات الرى تحتوى لى المبيدات والملوثات فى الماء تعطى صورة واضحة عن مصادر تعرض النباتات المائية وللحيوان

التى تعتمد على البيئات المائية . ثم الكشف عن مخلفات واطية جدا فى معظم العينات التى اخذت من اكبر الأنهار . فى بعض الاحيان سواء كان ذلك عرضيا او بشكل مقصود تدخل المبيدات الى مصادر المياه بكميات كبيرة مما يؤدى الى موت معظم ومختلف انواع الحياة المائية .

* لا يمكن اعتبار المياه فى البيئات الطبيعية ذات صفات مطلقة لانه يتغير فى المواصفات والنوعية تتميز المياه بانها الوسط الذى يحتوى ويرتبط مع كم هائل من المواد العضوية وغير العضوية . تم الكشف عن انواع متعددة من العناصر الكيميائية فى محلول المياه العادية أو فى المعلقات خلال النقل بواسطة المياه المتحركة . ذوبان المبيدات فى الماء العادى يتأثر لحد ما بوجود بعض المواد الموجودة فيها . كما ان انهيار او ثبات المبيدات يتأثر لحد كبير بمواصفات المياه . المبيدات ذات قابلية كبيرة لبعض المواد الموجودة فى الماء لذلك تختلف مستويات المخلفات فى مختلف المكونات المائية .

* تتحكم العلاقات الطبيعية والحيوية فى انتقال مخلفات المبيدات بين مكونات البيئة بينما العوامل الفسيولوجية والتوكسيكولوجية تؤثر على تراكم وتأثير المبيدات على النباتات والحيوانات . حتى لو كانت مستويات هذه المبيدات عالية الثبات من عائلة ال د د ت تتعاظم كمياتها بشكل كبير فى البيئات والمأهولات المائية فانها قد تحدث تأثيرات ملحوظة فى موت الاسماك والحيوانات البرية الغير مستهدفة Huntland Bischoff (١٩٦٠) .

* ان الهدف من معظم التحاليل المائية تقدير مستويات التلوث فى النظام المائى . بينما يعطى تحليل عينات المياه العادية (الخام) دليلا فقيرا عن مستويات المخلفات التى تحدث فى مختلف مكونات هذا الماء . معظم المبيدات الثابتة ذات ذوبان بسيط فى الماء ولكن الماء قد يحتوى على مواد عالقة ناقلة تحتوى على تركيزات عالية من هذه المبيدات . تحليل عينات مياه الانهار قد تدعو للقول والاقتراح بوجود تركيزات قليلة من المبيدات بسبب مسك الجسيمات العالقة فى الماء للمبيدات وتزداد كميات المبيدات اذا كان حجم الماء فى الانهار والبحيرات والمجارى المائية كبيرا . ان مستويات المبيدات فى العوالق الخاصة مثل البلانكتون والمواد العضوية الصلبة تكون اكثر اهمية فى اعطاء دليل عن اخطار هذه المركبات على الاسماك والطيور عما هو حادث مع مستويات المبيدات فى الماء نفسه .

طرق التحليل :

* المبيدات تشتمل على العديد من المركبات ذات تركيبات كيميائية ومواصفات شديد الاختلاف لذلك لابد من توافر طرق متعددة لتحليل هذه المركبات . العديد من المبيدات قد تعرف او يكشف عنها بطرق كثيرة ولكن بعضها يحتاج لطرق متخصصة . لقد وضعت وطورت طرق تحليل المبيدات لتصلح فى الكشف عنها فى بيئات مختلفة بينما هناك طرق تصلح لأوساط معين دون غيرها . ان كفاءة الطريقة للكشف عن مبيدات متخصصة فى انواع مختلتفة من العيناد

تختلف تبعا لخبرة القائم بالتحليل والامكانيات المتوفرة فى المعمل . لا بد من توفر بعض الاجهزة التقليدية واخرى متقدمة ومكلفة لتحليل مدى واسع من المبيدات ∴ القليل من المشتغلون بالتحليل يعملون فى الكشف عن جميع انواع المبيدات والبعض الاخر على دراية وخبرة لتحليل عدد لا بأس به من المركبات وهناك فئة ثالثة تستطيع تحليل عدد قليل من المبيدات .

* لاجراء تحليل جيد للمبيدات يجب توفر الموهبة والمهارة الفنية والمعرفة لدى القائم بهذه المهمة هذا يتضح اكثر فى حالة استعمال الاجهزة المتقدمة والطرق الحديثة مثل الكروماتوجرافى الغازى . بالرغم من استخدام هذه الامكانيات العظيمة فى العديد من المعامل بالدقة والمهارة المطلوبة لأن النتائج تتأثر كثيرا بمهارة المشتغل بالتحليل ليس فى التشغيل فقط ولكن فى اختيار وتنفيذ الطرق المناسبة لتجهيز العينات وبالحس التخمينى لديه عن مقدرة الأجهزة والامكانيات التى يعتمد عليها حيث يستطيع ان يتنبأ بموقف المخلفـــات ببراعة فائقة تتوقف على خبرته وتجاربه ودوام العمل بنفسه .

* قد تتلوث الاسماك والاحياء المائية الاخرى بمدى واسع من المبيدات بينما الامكانيات المتاحة فى العديد من المعامل لا تسمح بالكشف عن هذه المركبات فى الانسجة الحيوانية . يمكن اجراء التحليل على المركبات التى معروف عنها انها تحدث اضرارا كبيرة على الحيوانات البرية . هذه الدراسات تعكس لحد كبير التطور فى مجال تحليل مخلفات المبيدات خاصة عند ظهور مشاكل . ان نقص توفر الطرق المناسبة لتحليل انواع معينة من المبيدات بعد التطبيق يحدد بشكل كبير نوعية الدراسات الخاصة بتلوث الاحياء البرية بالمبيدات . والآن حدث تطور كبير فى هذا الاتجاه .

* معظم برامج تحليل المبيدات تضمن عزل وتعريف وقياس المخلفات فى عينات الوسط لموجودة فيه . لقد تم انجاز هذا العمل من خلال ازالة المبيدات وغيرها من المواد المستخلصة من لعينات وذلك عن طريق تعريض المستخلصات لطرق تمكن من عزل اكثر للمبيدات ومن ثم تعرف تحدد كمية المخلفات . بعض طرق التحليل الاخرى تستخدم وسائل غير مباشرة لكشف وجود لمبيدات وهذه تشمل قياس التفاعلات البيولوجية والفسيولوجية او الكيميائية التى تنتج من وجود واع معينة من المبيدات فى العينات .

* الطرق المستخدمة فى تحليل العينات للكشف عن الحيوانات البرية والبيئات الموجودة فيها تلوثها بالمبيدات هى نفس الطرق المستخدمة مع عينات الغذاء والالياف . هناك بعض الاعتبارات خاصة مطلوبة لتحليل بعض المبيدات فى بعض الاوساط . وسنشير الى اهم هذه الطرق باختصار بما يلى :

أ) قياس النشاط البيولوجى :

تستخدم النباتات والحيوانات بشكل واسع ككائنات اختبار فى قياس سمية وفاعلية المبيدات

وفى تحليل العينات للكشف عن وجود الملوثات الغير معروفة . سنتناول فى هذا المقام مناقشة استخدام التقييم الحيوى وقياس تثبيط النشاط الانزيمى فى الكشف عن مخلفات المبيدات . تستخدم اختبارات تثبيط نشاط انزيم الكولين استريز على نطاق واسع فى الكشف عن مخلفات المبيدات الفوسفورية والكاربامات فى النظم الحيوانية . كذلك يمكن استخدام هذه الطرق للكشف عن المبيدات الاخرى التى تثبط الانزيمات فى اوساط بيئية اخرى . يمكن تقدير المخلفات باستخدام الانسجة الحيوانية كالمخ أو الدم بشكل مباشر فى التقديرات . يجب ان يحدث استخلاص جيد للعينات يليها التنظيف كما هو مطلوب ومتبع فى الطرق الاخرى للتقدير .

* هناك حالات كثيرة اعطت فيها الاختبارات الحيوية المبنية على قياس تثبيط النشاط الانزيمى افضل النتائج التى تفوقت على الطرق الاخرى بما فيها الطرق الكيميائية التقليدية فى الكشف عن التعرض لجرعات غير قاتلة من المبيدات فى هذه الاختبارات يستخدم الدم كوسط طبيعى يقاس فيه درجة التثبيط . احيانا يقاس تثبيط الانزيم فى المخ للكشف عن دور المركبات الفسفورية كمسببات لموت الطيور كما حدث مع مبيد الثيمت (Bunyan and Taylor – ١٩٦٦).

* اختبارات تقدير مخلفات المبيدات فى مستخلصات العينات يتضمن تجهيز العينة وتقدير درجة وسرعة تثبيط الكولين استريز فى المستخلص فى مقابل الانزيم القياسى . يمكن استخدام الدم والمخ فى انواع عديدة من الحيوانات كمصدر للانزيم . تخلط العينة مع الأسيتونتريل فى خلاط خاص او تطحن العينة وتحفظ فى اناء مع مذيب الاستخلاص . بعد الترشيح يجفف المستخلص تحت التفريغ ثم يذاب الراسب المتبقى فى الكلوروفورم . يتم تنظيف مركز الكلوروفورم من المواد المتداخلة بتمريره خلال عمود مملوء بكربامات الصوديوم – كربون – سيليت . يؤخذ الراشح للتجفيف ثم يعاد اذابته فى البنزين وينشط بحمض فوق الخليك . ويتم التقدير بالمعايرة القياسية للكشف عن النشاط المضاد للكولين استريز .

* تحليل مستخلصات العينات تمكن من قياس نواتج تمثيل المبيدات الفوسفورية التى يكون لها نشاط بيولوجى اكبر من المركبات الصلبة . تفيد هذه الطرق فى الحالات التى لا تستطيع طرق التحليل الكيميائية تعريض نواتج الانهيار للمبيدات . من اكبر عيوب هذه الطرق عدم التخصص بمـ لا يمكن من التمييز بين الانواع المختلفة من المبيدات التى تثبط نشاط انزيم الكولين استريز كذلك لا يمكن بالطرق الانزيمية التقدير الدقيق لكمية المبيد فى العينة الا اذا كان نوع المبيـ معروف مسبقا .

* تستخدم ثلاثة طرق فى تقديرات الكولين استريز وهى : الطريقة اللونية حيث يقاس الاسيتايل كولين الغير متفاعل (Hestrin , 1949) والطريقة الكهرومترية electrometric وفيها يسمح بفصل الكولين استريز على الاسيتايل كولين فى محلول منظ قياسى (Michel , 1949) والطريقة الكهربية اللونية electrophoretic حيث توضـ

العينـــة فى جـيل نـــشوى وتقطع فى شـــرائح وقطـــاعات وتصبـــغ قبـــل التحضيـــر وتقـــاس . (Bunyan and Taylor , 1966) .

* لقد اجريت دراسات عن القيم النسبية للاختبارات اللونية الكهرومترية للكشف عن المبيدات فى الاسماك وغيرها من الاحياء البرية . أما الطرق الكهرومترية ذات مجال mhsu وقد اتضح منها عدم حدوث تأثيرات قاتلة على الاسماك من جراء التعرض لجرعات تحت مميتة من المبيدات .

* التقييم الحيوى باستخدام النباتات والحيوانات ذات قيمة فى تحليل التأثيرات السامة للكيميائيات . عند تعريض الكائنات الحية لمستخلص العينة يمكن قياس التأثيرات السامة الكلية . تفيد هذه الطريقة فى تحليل الغذاء الحيوانى حيث ان الطرق الاخرى غير قادرة على تعريف نواتج الانهيار . كل مبيد او ناتج تمثيله له نشاطه الحيوى الخاص والمعين . لذلك لا يمكن التعبير عن نتائج اختبارات التقييم الحيوى باستخدام حيوانات التجارب بوحدات أجزاء فى المليون الا اذا كان نوع السم فى العينة معروف جيدا . تستخدم العديد من الحيوانات فى التقييم الحيوى لمخلفات المبيدات مثل الفئران البيضاء مع مركب ١٠٨٠ فى العينات النباتية . يستخدم الذباب المنزلى للتقدير الكمى ونصف الكمى للسموم . تستخدم يرقات البعوض وغيرها من الحشرات لقياس السموم فى العينات المائية . قدمت الدافنيا طريقة شديدة الحساسية للكشف عن مخلفات المبيدات فى الماء . لم تستخدم النباتات على نطاق واسع فى دراسات تلوث الاسماك والاحياء البرية .

* ليكن معلوما ان طرق التقييم الحيوى لتقدير مخلفات المبيدات قياسية حيث يتم تعريض الحيوانات لمستخلص العينة او العينة نفسها فى بعض الحالات . بعد فترة معلومة من التعريض يتم حصر الحيوانات الميتة ويتم تسجيل نسبة الموت . يمكن التعبير عن نتائج الاختبار باجزاء فى المليون للسم المكافئة لوحدات المبيد القياسى او يعبر عنها بجزء فى المليون مباشرة فى حالة اذا كان نوع السم معروف ومؤكد .

* لقد تم الاستعاضة عن طريقة التقييم الحيوى بالطرق الكيميائية فى تحليل المخلفات فى الاسماك والحياة البرية الاخرى بسبب نقص التخصص وطول الفترة اللازمة للحصول على النتائج والتكلفة العالية وصعوبة تربية مستعمرات حيوانات الاختبار . ان مستقبل التقييم الحيوى يكمن فى قياس السمية وليس الكشف عن مخلفات المبيدات .

ب) طرق التحليل الكيميائية للمخلفات :

تعتبر طرق التحليل الكيميائى للكشف وتقدير مخلفات المبيدات فى الاسماك وغيرها من الاحياء البرية عصب الدراســـات البيئية لتحديد العلاقات بين الحيوانات والمبيدات بالتفصيل المطلوب :

١ - اختيار طرق التحليل :

يجب تحديد والاتفاق على طريقة وخطوات التحليل قبل البدء فى جمع العينات . اللقاءات بين الكيميائيين والبيولوجيين تؤدى الى تحديد وتوصيف وتعريف الصعوبات التى قد تحدث خلال تحليل العينات . يجب تصميم وضبط اهداف التجربة الحقلية بما يحقق خطة ومتطلبات القائم بالتحليل لتداول العينات واعطاء نتائج ذات معنى . يحتمل وجود انواع مختلفة من المبيدات فى العينات الحقلية مما يتطلب طرق وخطوات خاصة لتحليل والكشف عن كل الكيميائيات المطلوبة . يجب جمع العينات الملائمة والكافية لاجراء التحليل مرتان على الاقل بشكل كامل . على البيولوجيون تحديد وتوصيف المبيدات المحتمل وجوده فى العينات او على الاقل تحديد الانواع التى يريدون التاكد من وجودها فى العينات .

* تبنى اختيار طرق التحليل للكشف عن مبيد او مبيدات معينة على اساس الاعتبارات التالية : أ) نوع العينة محل التحليل ، ب) درجة الدقة المطلوبة فى النتائج الخاصة بالتقدير النوعى او الكمى ، جـ) الامكانيات بما فيها الاجهزة المتاحة للتحليل ، د) الوقت المطلوب لاستكمال وإنهاء التحليل . هناك عوامل اخرى تؤخذ فى الاعتبار مثل ميل الكيميائى وقناعته فى استخدام طرق معينة للتحليل . فى الحالات التى يكون فيها شك من حدوث الوفيات بسبب المبيدات يجب ان تحقق نتائج الطريقة المختارة دليل او وثيقة مؤكدة يعتد فيها عند اللجوء للمحاكم والاجراءات القانونية الرسمية .

* يمكن اللجوء لاستخدام طرق تقليدية تكشف عن المبيدات بسرعة وبأقل عدد من الخطوات اذا كان مطلوب تحليل عدد كبير من مكررات العينة الواحدة . هذا يحدث فى تحليل مبيد واحد او مجموعة من المبيدات من نوعية واحدة . مثال ذلك ما يحدث من هضم عينات انسجة الطيور باستخدام حامض البيركلوريك للهضم والكشف عن المبيدات الكلورينية فيما عد الاندرين والالدرين والديلدرين .

٢ - تجهيز العينة :

من الخطوات الهامة والمحددة لصلاحية طرق الاستخلاص والتنظيف بل انها تمثل الخط الحرجة فى تحليل المخلفات . تحدد درجة النجاح فى فصل المبيدات من العينات المحتوية علي القيمة الحقيقية للتحليل الكيميائى .المشكلة الكبيرة فى هذه المجال تتضمن الاستخلاص وجم كمية صغيرة جدا من المبيد من كمية كبيرة جدا من العينة . من الاهمية بمكان ازالة مخلفا المبيد من العينة بطريقة لا تغير من التقدير الدقيق لكمية المخلفات . يجب فصل المخلفات من المو التى قد تتداخل او تحجب تعريفها وتقديرها .

* تستخدم عدة طرق بما فيها الوسائل الميكانيكية او الكيميائية لجعل العينات حسا للاستخلاص الكيميائى . من الطرق الشائعة طحن العينة مع كبريتات الصوديوم عند تجهيز العينا

النباتية والحيوانية . عندما تكون العينات خشنة يضاف الرمل لتسهيل الطحن والهرس . العينات التى يضاف اليها كبريتات الصوديوم فى الحقل لا تحتاج لتجهيز سابق قبل الاستخلاص حيث لا يحدث تراكم للرطوبة اثناء التخزين . قد تخلط العينات النباتية والحيوانية مع الثلج الجاف فى خلاط مناسب لتكوين مسحوق . العينات التى تجهز بهذه الطريقة تستخلص عادة مثل السيحان او تخلط مع كبريتات الصوديوم ى. ان استخدام خلاط الموجات فوق الصوتية يفيد كثيرا مع الانسجة الطرية لانه يشتت ويفتت الخلايا والأنسجة بما يحقق الاستخلاص الفعال . الطرق تتضمن هضم النسيج باستخدام الاحماض او القواعد القوية كما يستخدم تفتيت النسيج تحت ظروف التكثيف العاكس .

* يمكن انجاز استخلاص العينة باستخدام مذيب او مخلوط من انظمة المذيبات . يمكن استخدام الخلط الميكانيكى او الخط الالى للاستخلاص مثل جهاز سوكسلت . من امثلة المذيبات المستخدمة فى الاستخلاص البنزين لاستخلاص المبيدات من الرواسب والطين ومخلوط الايثير والهكسان لاستخلاص العينات المائية والهكسان او الأسيتونتريل لاستخلاص الانسجة النباتية والحيوانية .

* تتضمن طرق التنظيف الشائعة Clean - up الفصل الجزئى لمستخلص العينة من مذيبين غير قابلين للامتزاج . هذه الخطوة هامة فى ازالة الصبغات والشموع والدهون . الفصل الجزئى ضرورى اذا كان محتوى الدهن فى العينة عالى . من امثلة نظم المذيبات الفعالة نظام الهكسان والداى ميثيل فورماميد وايثير البترول مع الاسيتونتريل (Faubert Maunder واخرون ١٩٦٠، Storderr and Mills –١٩٦٧) . يمكن انجاز الخطوة الاخيرة من التنظيف بترشيح المستخلص الناتج من الفصل الجزئى باستخدام عمود كروماتوجرافى مملوء بمادة ادمصاص مناسبة مثل الفلوروسيل او الأتكلاى او الفلوروسيل – سيليت او اكسيد الماغنسيوم او مخلوط اكسيد الماغنسيوم – سيليت او اكسيد الالومنيوم .

* بعد ادمصاص العينة على العمود تزاح مخلفات المبيد باستخدام مذيبات غير مناسبة مثل لايثيل ايثر فى ايثير البترول او الايثيل ايثر فى الهكسان . فى بعض الحالات يمكن ازاحة المبيد استخدام مذيب واحد . بعد ذلك يتم تركيز المزاح حتى حجم معين ثم يحقن مباشرة فى جهاز كروماتوجرافى الغازى او يمكن تجفيفها تماما ثم يعاد اذابة المخلفات فى مذيب اخر للحقن فى كروماتوجرافى الغازى او التحليل باستخدام الكروماتوجرافى الورقى او ذو الالواح الزجاجية ذات طبقة الرقيقة TLC . يمكن استخدام الطرق اللونية بعد هذه الخطوة . يمكن استخدام كروماتوجرافى الالواح فى تنظيف العينات من المواد المتداخلة .

* ثم تطوير الطرق بما يختصر ويقلل من الوقت اللازم لتجهيز العينة مثال ذلك طريقة هضم تنظيف عينات الانسجة الحيوانية باستخدام حامض البيركلوريك والهكسان مع عينات المبيدات كلورينية العضوية . فى هذه الطريقة يتم تحطيم الانسجة الحيوانية بالحامض ثم يتحرر الدهن

المحتوى على المبيدات (Stanley and Le Favoure , 1965) . يتم استخلاص الدهون بالسيكلوهكسان ثم يكسر باستخدام مخلوط مكون من حامض الكبريتيك - حامض الكبريتيك المدخن - السيليت . بعد ذلك يمرر المستخلص خلال عمود Davidow وبعدها تكون العينة صالحة للتحليل النهائى . يمكن تجهيز عينات الطيور الكاملة بهذه الطريقة بعد تقطيعها . من اهم محددات صلاحية هذه الطريقة هو تكسير المبيدات بالاحماض المستخدمة كما فى حالة الديلدرين والالدرين والاندرين كما ان الطريقة غير عملية مع المواد الغير دهنية مثل النباتات والماء والتربة . هناك طريقة سريعة للمبيدات الكلورينية ، تتمثل فى احداث عملية اخراج الكلور باستخدام قلوى فى مكثف عاكس .

٣ - تحليل العينة :

* معظم تحليل مخلفات المبيدات فى الاحياء المائية تجرى باستخدام الكروماتوجرافى الغازى . يستخدم الكاشفات الصائدة للالكترونات ECD او القياس الكهربى الدقيق لتعريف المبيدات الكلورينية والثيوفوسفات . تستخدم الكروماتوجرافى الورقى او ذى الالواح المغطاة كطرق مساعدة ومعضدة للكروماتوجرافى الغازى كذلك فى تجارب الغربلة وهى تفيد كذلك فى تعريف المبيدات المعروفة والمؤكد وجودها فى الوسط . سوف يزيد استخدام الكروماتوجرافى ذى الالواح اما للكشف عن المبيدات فى العمل الروتينى السريع او فى تنظيف العينات قبل الكروماتوجرافى الغازى .

* استخدام القياس الطيفى بالأشعة تحت الحمراء IR لتعريف وتحليل مخلفات المبيدات فى المستحضرات المستخدمة فى التجارب الحيوية . حقيقة الامر ان المخلفات فى النباتات والحيوانات تكون صغيرة جدا بما لا يسمح بهذه الطريقة . ان تطور طرق جمع وتركيز المخلفات خلال الكروماتوجرافى الغازى قد يعمل على زيادة الاعتماد على هذه الطريقة فى المستقبل .

* لقد اصبحت طريقة الاعتماد على طيف الامتصاص الغازى ذات اهمية كبيرة فى تقدير العناصر المعدنية وشبه المعدنية فى حدود اقل من واحد جزء فى المليون . هذه الطريقة تفيد فى الكشف عن العناصر والمعادن مثل الزئبق والنحاس كملوثات بيئية او كمسببات مباشرة لموت الاسماك وغيرها من الاحياء البرية .

* هناك اهتمام كبير وادلة مؤكدة على تكسير ال د د ت خلال التخزين والتحليل (Spencer ,١٩٦٧) . قد يتحول ال د د ت إلى DDE فى الأنسجة تحت ظروف معينة من التخزين كما قد يحدث هذا التحول خلال عمليات تنظيف العينات فى الاعمدة المملوءة باكسيد المغنسوم - السيليت . كما ان الـ د د ت قد يتحول الى DDD و DDE فى الكروماتوجرافى الغازى (Ott & Gunther ١٩٦٥) . هذا مهم جدا للدارسين فى مجال تسمم الاسماك والاحياء البرية فى البيئة بسب انتشار التلوث البيئى بالـ د د ت . هذه الحقائق ذات اهمية كبيرة فى دراسة العلاقة بين الـ د د ت الموجودة فى الانسجة وتأثيراته على وظائف الجسم الحيوية فى

الكائنات المحتوية عليه . الحقيقة اننا لا نعرف ما احدثه تكسير الـ د د ت فى الجسم فى الدراسات السابقة .

٤ - تحليل النسيج :

* هناك طرق عديدة ومختلفة تستخدم فى تجهيز وتحليل الانسجة المأخوذة من الحيوانات البرية للكشف عن المبيدات الكلورينية . فى الغالب تستخدم طرق التجهيز والاستخلاص والتنظيف القياسية والمتعارف عليها .. كما سبق القول تستخدم طريقة الهضم والتقدير السريع بحامض البيركلوريك خاصة اذا كان هدف التحليل الكشف عن ال د د ت ومشابهاته ومشتقاته . وجميع التقديرات تجرى بالكروماتوجرافى الغازى .

* هناك طرق تحليل قليلة نسبيا تستخدم فى الكشف والتقدير الروتينى للمبيدات الحشرية الفوسفورية والكاربامات وغالبا يستخدم الكروماتوجرافى الغازى المزود بالكاشف ECD فيما عدا الكاربامات التى تقدر بالطرق اللونية . مجموعة الثيوفوسفات من بين المبيدات الفسفورية العضوية تمثل مصدر الخطر على الاسماك والاحياء البرية . لقد وجدت مخلفات الباراثيون فى القناة الهضمية والريش فى الطيور . يتم خلط النسيج الحيوانى فى خلاط مع الاسيتونتريل ثم يجرى فصل جزئى بالمذيبات عدة مرات بواسطة البتروليم ايثر المشبع بالاسيتونتريل . يجرى التنظيف النهائى للعينة فى عمود من الفلوروسيل . يتم التقدير فى الكروماتوجرافى الغازى المزود بخلية الكبريت للكشف عن المركبات . فى حالة الريش تغمر العينة المقطعة فى الاسيتونتريل ويحقن المستخلص فى الـ GC بدون تنظيف . لم تحظى مركبات بنصيب بنصيف كبيز فى دراسة تلوث الاسماك والاحياء المائية بالمبيدات .

* تحليل انسجة الحيوانات البرية للكشف عن وجود مبيدات القوارض تتضمن تحليل مخلفات الصوديوم فلوروأسيتات ، الاستركنين او فوسفيد الزنك . تجرى الاختبارات عادة على محتويات الانسجة والامعاء فى الحيوانات الغير مستهدفة المأخوذة من الاماكن التى تطبق فيها مكافحة القوارض . ثم الكشف عن الاستركنين فى عينات المعدة والقناة الهضمية بما فيها الامعاء والحوصلة والقانصة ولحوم الحيوانات التى تستخدم جثتها كطعوم للشدييات المفترسة . بعد الاستخلاص قد تستخدم الطرق اللونية للكشف عن الاستركنين (Lilliman and Trezise – ١٩٦٤) .

* تتعرض الحيوانات الغير مستهدفة لفوسفيد الزنك الناتج من استهلاك الطعوم السامة ، قد سجلت حالات وفاة كثيرة من الطيور المائية بسب هذا التلوث . تتضمن طريقة الكشف عن المركب تقدير غاز الفوسفين . يجب اخذ الحيطة عند تداول العينات المحتوية على هذه المادة حتى لا يهرب الغاز قبل تحليل العينات .

* هناك طرق معروفة واسعة الانتشار للكشف عن المعادن الثقيلة خاصة الزئبق والرصاص

والزنك والنحاس وهى من اكثر المعادن التى توجد وتتراكم وتؤثر على الاسماك والاحياء المائية . الزئبق والنحاس تتأتى من استخدام المبيدات الفطرية المحتوية عليها . لقد تم الكشف عن الزئبق فى كبد وكلى الطيور الميتة فى كثير من بلدان العالم خاصة كاليفورنيا بالولايات المتحدة الامريكية . حدث الموت بسبب تناول الطيور لحبوب معاملة بالمبيدات الفطرية الزئبقية .

* معظم مستحضرات مبيدات الحشائش التى تستخدم فى مكافحة النباتات الارضية لا تعتبر من المواد التى تحدث ضرر مباشر على الاسماك والاحياء البرية الاخرى . لذلك لا تتضمن برامج الكشف عن المبيدات فى البيئة فى اغلب الاحوال المبيدات الحشائشية . لقد تم الكشف عن مبيد ٢،٤م – د فى الانسجة الحيوانية فى احدى الدراسات . طريقة التحليل ببساطة تتضمن تحميض العينة وتحليلها مائيا فى الملح ثم اعادة التحميض ثم الاسترة مع الداى ازو ميثان ثم التنظيف فى عمود الفلوروسيل ثم تقدير المستخلصات وتعريفها بالكروماتوجرافى الغازى .

٥ – تحليل العينات النباتية الخضراء :

* من الشائع تحليل المواد النباتية للكشف عن مخلفات المبيدات الحشرية والحشائشية وتتبع نفس الطرق الخاصة بالعينات الحيوانية والاختلاف الوحيد يتمثل فى تجهيز العينات . تفيد طريقة البنزين المبتلة فى ازالة مخلفات المبيدات الكلورينية من النباتات الجافة . يتم نقع المادة النباتية المطحونة فى البنزين طوال الليل وهى افضل فى الاستخلاص من الغسيل المتكرر بالبنزين . يمكن حقن المستخلص مباشرة بدون تنظيف فى جهاز الكروماتوجرافى الغازى . يمكن فصل المخلفات من العينات النباتية الطازجة او الجافة جزئيا باستخدام مخلوط محلول الايزوبربيل والبنزين ثم يعاد استخلاص المخلوط بواسطة الكحول والماء (Thornburg – ١٩٦٣) .

* هناك العديد من المواد الشمعية الموجودة فى النباتات خاصة المائية التى قد تتداخل مع طرق التحليل . يمكن استخلاص المبيدات الكلورينية بالنقع فى مذيب مناسب مثل الهكسان ثم يجرى فصل جزئى بواسطة الداى ميثيل فورماميد ثم يستخدم محلول المبيد فى الهكسان مباشرة دون اى تنظيف . استخدمت الطرق اللونية لتعريف مبيد الكرباريل فى النباتات . ليست هناك بيانات تؤكد حدوث اضرار على الحيوانات التى اكلت اعشاب عوملت بمبيدات الحشائش من مجموعة حامض الفينوكسى الكانويك مثل ٢،٤ – د يتم الكشف عن هذه المركبات بنفس الطرق المتبعة فى تقدير المخلفات الخاصة بهذه المبيدات فى النباتات .

٦ – تحليل عينات التربة :

هناك العديد من العوامل التى تؤثر فى ازالة المبيدات من التربة بما فيها التفاعلات الكيميائية لبعض انواع المبيدات مع مخلفات عمليات التمثيل او ارتباط المبيدات مع مكونات التربة او ادمصاص المبيدات بواسطة الميكروبات والكائنات الحية الاخرى فى التربة . استخدمت طريقة سهلة ومبسطة لتحليل عينات التربة فى قسم المصادر المائية بجامعة كاليفورنيا ، فى هذه الطريقة تجفف

العينة فى الهواء ثم تستخلص بالاسيتونتريل وترج مع ٢ ٪ كبريتات صورديوم واخيرا تستخلص بالهكسان ، ويتم حقن مستخلص الهكسان فى الكرماتوجرافى الغازى . يفيد هذا الاسلوب فى الكشف عن المبيدات الكلوروينية العضوية . هناك طريقة اخرى مماثلة تتمثل فى استخلاص عينات التربة بالبنزين والرج مع كبريتات الصوديوم اللامائية ثم تؤخذ طبقة البنزين للتحليل . تختلف طرق الكشف عن مبيدات الحشائش فى التربة باختلاف نوع التربة . مستخلصات التربة الخفيفة يمكن تحليلها مباشرة بدون عمليات تنظيف اما الاراضى الغنيـــة بالمـــواد العضـــوية تتطلب تنظيف .

٧ - تحليل عينات الماء :

* عادة تكون مستويات المبيدات فى الماء منخفضة جدا وهناك طرق كثيرة بسيطة وسهلة للكشف عن هذه المخلفات . هناك طريقة بسيطة لا تتطلب الفصل الجزئى او التنظيف باعمدة الكروماتوجرافى حيث يخلط ٢ جالون من عينة الماء بمحلول ١٥ ٪ ايثر فى الهكسان ثم يسحب المستخلص ويركز لحوالى ٠,٥ ملليلتر بعد ذلك يحقن ١٠٠ ميكروليتر فى الكروماتوجرافى الغازى وهى تعطى نتائج قريبة جدا للطرق الاخرى . فى بعض الحالات تجرى الكشف عن مخلفات المبيدات فى الماء بالطريقتين الكيمائية والحيوية معا وقد تستخدم نفس طرق تقدير المخلفات فى الخضر والنباتات الأخرى .

**** تمثيل بيانات المخلفات :**

بيانات المخلفات فى غاية الاهمية لتقرير حقيقة تواجد المبيدات فى المكونات البيئية المختلفة . ان تطوير واستخدام ووضع القوانين المنظمة لتداول المبيدات وتحديد تأثيراتها يتوقف على التقييم الخاص والمبنى على اساس المعلومات الخاص بالمخلفات . يستفاد من بيانات المخلفات فى جميع النواحى والعلاقات الخاصة بالمبيدات ويستفيد منها البحاث والتطبيقيين سواء بسواء . هذه البيانات تتأتى من مختلف الدراسات والتحليلات على العديد من انواع العينات . حيث ان الدراسات على المخلفات فى الاسماك والاحياء المائية قليلة ، ثم وضع قياسية لعرض هذه النتائج وكتابة التقارير تسهيلا لوحدة العمل واستقراء النتائج ووضع الاستنتاجات المناسبة والسليمة . يجب ان تتضمن البيانات جميع الظروف المحيطة من ماء وتربة ونباتات وحيوانات ومواد كيميائية فى الماء وكذلك انواع الاراضى .

REFERENCES

Archer, T. E., Winterlin, W. L., Zweig. G. and Beckman, H. F. (1963). Arg. Food Chem. 11, 471.

Azevedo, J. A., Jr., E. G., and Woods. L. A., Jr. (1965(. Colifd. Fish Game 51, 276.

Bamlford, F. (1951). In "Poisons : Their Isolation and identification." 3 rd

ed., pp. 68-74. Blakiston, Philadelphia, Pennsylvania.

Benedict. W. V., and Baker, W. L. (1963). J. Forestry 61, 340.

Berg. W., Johnels, A., Sjöstrand. B., dand Westermark, T., (1966). Oikoc, 17, 71.

Bevenue, A., Zweig. G., and Nash, N. L. (1962). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 45, 990.

Burchfield, H. P., and johnson, D. E. (1965). In "Guide to The Analysis of Pesticide Residues." Vols. I and II. U.S. Dept, Health Educ., and Welfare, Publ. Health Serv., Office of Pesticides, Washington, D. C.

Bunyan, P. J., and Taylor, A. (1966). J. Agr. Food Chem. 14, 132. "Determination of 2, 4-dichlorophenoxy acetic acid and amine salts in water."

California Dejpartment of Agriculture, Sacto., Calif. (May 4, 1966). I p. dUnpublished work.

Collins, B. D., and Bischoff, A. I. (1965). Outdoor Calif. 26, 12.

Crosby, D. G., and Archer, T. E. (1966). Bulletin Envir. Con. Tox. 1, 16.

deFauberltl lMaunder, M. J. Egan, H., godley, E. W., Hammond, E. W., Roburn, J. and thomson, J. (1964). Analyst 89, 168.

Elmore, J. W., and Roth. F. J. (1943). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 26, 559.

Erickson, L. C., and Hield, H. Z. (1962). J. Agr. Food Chem. 10, 204.

Frey, P. J. (19k63). Progressive Fish Culturist 25, 46.

Gutenmann, W. H., and Lisk, D. J. (1964a). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 47, 353.

Gutenmann, W. H., and Lisk, D. J. (1964b). J. Am. Water Works Assoc. 56, 189.

Hall, C. W. (1965). U. S. Fish Wildlife Serv. Circ. 226, 32.

Hazeltine, W. E. (1963). J. Econ. Entomol. 56, 624.

hestrin, S. (1949), J. Biol. Chem. 180, 249.

Hikckey, J. J., and Keith, J. A. (1965). U. S. fish Wildlife Serv. Circ. 226, 11.

Hunt, E. G., and Bischoff, A. I. (1960). Calif. Fish Game 46, 91.

Keith, J. O. (1963). U. S. Fish Wildlife Serv. Circ. 167, 55.

Keith, J. O. (1966). J. Appl. Ecol. 3 (Suppl.), 71.

Keith, J. O., and Mulla, M. S. (1966). J. Wildlife management 30, 553.

Keith, J. O., and Perry, V. A. (1964).U. S. Fish Wildlife Serv. Circ. 199, 59.

keith, J. O., Hansen, R. M., and Ward, A. L. (1959). J. Wildlife Management 24, 137.

Lilliman, B., and Trezise, W. H. (1964). Med. Sci. Law 4, kkkk199.

Matalon, J., and Robison, W. H. (1956). U. S. fish and Wildlife Research Center, Denver. 7 p. Unpublished work.

McEwen, L. C., and Peterson, J. E. (1963). U. S. Fish wildlife Serv. Circ. 167, 45.

Meeks, R. L., and Peterle, T. J. (1965). U. S. Fish wildlife Serv. Circ. 226, 49.

Michel, H. O. (1949). J. Lab. Clin. Med. 34, 1564.

Mills, P. A. (1959). J. /Assoc. Offic. Agr. Chemists 42, 734.

Miskus, R. P., Gordon. H. T., and George, D. A. (1959). J. Agr. Food Chem. 7, 613.

Moore, N. W. (1966). J. Appl. Ecol. 3 (Suppl.), 261.

Mulla, M. S., Keith, J. O:, and Gunther. F. A. d(1966). J. Econ. Entomal. 59,1085.

Nicholson, H. P., Grezenda, A. R., Lauer, G. J., Cox, W. S., and Teashey, J. I. (1964). Limnol. Oceanogr. 9, 310.

Official methods of Analysis (1955). Assoc. Offic. Agr. Chemists. (W. Horwitz, ed.), 8th ed., pp. 493-496. Assoc. Offic. Agr. Chemists, Washington, D. C.

Ott, D. E., and Gunther, F. A. (1965). In "Residue Reviews" (F. A. Gunther, ed.), pp. 70-84. Springer-Verlag. New york Inc., New York.

Ott, D. E., and Gunther, F. A. (1966). J. Econ. Entomol. 59, 277.

Peterson, J. E., and hall, C. W. (1964). U. S. Fish Wildlife Serv. Circ. 199, 45.

Pope. J. D., Jr., cox III, W. S., and Grzenda, A. R. (1966). "the determination of Silvex and its low volatile esters in water and muds". So. East Water Labs, Athens, Ga. Dept. health Ed. and Wel., Fed. Water Poll. Control Adm. 10 p. Unpublished work.

Roth, F. J. (1957). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 40, 302.

Rudd, R. L., and Genelly, R. E. (1956). R. E. (`1956). Calif. Dept. Fish Game Bull. 7, 209 pp.

Sandell, E. G. (1959). In "Chemical Analysis - Colorimetric Determination of Traces of metals." d(B. L. Clarke, P. J. Elving and I. M. Kolthoff, eds.) 3rd ed. Interscience, New York.

Shell Development Company. (1963). Anal. Methods MNS-1/63.

Sjöstrand. B., (1964). Anal. Chem. 36, k814.

Spencer, D. A. (1967). "Problems in Monitoring DDT and its Metabolites in the Environmnet." Presented at a meeting of the Monitoring Subcommiittee of the Federal. Committee on Pest Control. May 18, 1967.

Springer, P. F., and Webster, J. R. (1951). Mosquito News 11, 67.

Stahler, L. M., and Whitehead, E. I. (1950). Science 112, 749.

Stanley, R. L., and LeFavoure, H. (1965). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 48, 666.

Stickel, L. F., Stickel, W. H., and Christensen, R. (19660> Science 151, 1549.

Storherr, R. W., and Mills, P. A. (1960). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 43, 81.

Taber, R. D., and McdT. Cowan, I. (1963). In "Wildlife Investigational Techniques" (H. S. Mosley, ed.) 2nd ed., pp. 250-k283. Edwards, Ann Arbor, Michigan.

Taylor, A., Rea, R. E., and Kirby, D. R. (1964). Analyst 89, 497.

Terriere, L. C., Kiigemagi, V., Gerlach, A. R., and borovicka, R. L. (1966). Agr. Food Chem. 14, 66.

Thornburg, W. W. (1963). In "Analytical Methods for Pesticides, Plant Growth Regulators and Food Additives" (G. Zweig, ed.). Vol. 1, pp. k87-108. Academic press, New York.

Tompkins, W. A. (1966). massachusetts Pesticide Monitoring Study Progress Report No. 1. Grant WPD 88-ddddddddd01. Dept. Health,

Educ., and Welfare, Washington, D. C.

White. dR. E. (1965). Insecticide analysis Procedure used by the Klamath Basin Study. presented to pacific Northwest Pollution Control Association. Vaqncouver, B. C., Nov. 3-5, 1965.

Woodwell, G. M., and Martin, F. T. (1964). Science 143, 481.

Wurster, C. F., Wurster, D. H., and Strickland. W. N. (1966). Science 148, 90.

Yip. G. (1964). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 47, 343.



قائمة المصطلحات



Absorptimetry	الإمتصاصية
Acceptable daily intake	التناول اليومى المقبول
Accuracy	الدقة
Action of cholinesterases	فعل إنزيمات الكولين إستريز
Activation	التنشيط
Acute toxicity	السمية الحادة
Adsorption	الإدمصاص
Adsorption chromatography	الإدمصاص الكروماتوجرافى
AECD	كاشف التوصيل الإلكترونى القلوى
AFID	كاشف التأين باللهب القلوى
Alternative methods	الطرق البديلة
AMD "Automatic Multiple Development	الطريقة الآلية المتعددة والمتطورة
Ampermetric	قياس التيار
Analyst	القائم بالتحليل
Analytical methods	طرق التحليل
Antibody	الجسم المضاد
Antigen	الجزئ المحفز
Antiserum	المصل المضاد
Applicability	إمكانية التطبيق
Aprotic	تحت ظروف غياب الماء
Asterisk	علامة مميزة
Auto analyser	المحلل الأتوماتيكى
Auto radiography	القياس الذاتى للإشعاع
Avoidance of contamination	تجنب التلوث
Avoidance of losses	تجنب الفقد
Azotize	تفاعلات الأزو الثنائية



Back scattering	تشتت الإشعاع
Background	الخلفية
Basic resources	المتطلبات الأساسية
Becquerel	وحدة النشاط الإشعاعى
Bioasasay	التقييم الحيوى
Bioindicator	استخدام الكائنات الحية فى التقييم
Biological assay	التقييم الحيوى
Biological relative effects	التأثير البيولوچى النسبى
Biological systems	النظم الحيوية
Biosynthesis	التخليق الحيوى
Biotechnology	التكنولوچيا الحيوية
Blank	العينة الخالية من مادة التحليل (المقارنة)
Blank responses of interferances	إختبارات لتحديد دور التداخلات
Buffering	التنظيم



Carrier	العنصر الحامل
Cartridge	أنبوب الأدمصاص
Cathode	الكاثود
CCPR	لجنة الدستور
Chemical separation	الفصل بالطرق الكيماوية
Chemigation	الرى الكيماوى
Choice of methods for collabarative study	إختيار الطرق للدراسات المنسقة والمشتركة
Chromatography	التحليل الكروماتوجرافى
Chromatographic applications	تطبيقات الكروماتوجرافى
Chronic	مزمن
Chronic toxicity	السمية المزمنة
"CIPAC" collaborative international Pesticides analytical council limited"	اللجنة الدولية المحدودة المشتركة لتحليل المبيدات

CIPAC formate	إستمارة السيباك
CIPAC information sheet	إستمارة معلومات السيباك
Clean-up	تنظيف (تنقية)
Clean-up procedure	طرق التنقية
Co-extractives	مستخلصات مرافقة
Co-solvent	مذيب مساعد
Codex committe on pesticide residues	لجنة الدستور الخاصة بمخلفات المبيدات
Codex MRL	وثيقة أو دليل الحدود القصوى لمخلفات المبيدات
Collaborative	العمل المشترك
Colorimeter	جهاز قياس الألوان
Colorimetry	قياس لونى
Colormetric method	الطرق اللونية
Commission international des methodes	اللجنة الدولية لطرق تحليل المبيدات
D'analyse des pesticides	التوصيل الكهربى
Conductivity	الإختبارات التأكيدية
Confirmatory tests	طرق الإنسياب المستمرة
Continuous flow techniques	العمليات المتحكم فيها
Controllable operations	المعايرة
Coulmetric	الإزدواج
Coupling	التبلور
Crystallization	التأثير المتراكم الكلى
Cumulative	وحدة الإشعاع
Curie	دورى
Cyclic	



Decay	إضمحلال الإشعاع
Derivatization	عملية الإشتقاق
Desimetry	إحدى طرق قياس الإشعاع
Detective or specific absorption	منطقة الإمتصاص المتخصصة أو الإختيارية

Detoxification	فقد السمية
Developer	الوسط الحامل (الناقل)
Development	عملية التصعيد
Dip counter	العداد الغامر
Direct exposure	التعرض المباشر
Direct scanning	الفحص المباشر للبقع
Discharge	تفريغ شحنات بصورة متصلة
Disintegration per minute	وحدة التحطيم الإشعاعى فى الدقيقة
Dissociation	تفكك
Drying	التجفيف



ECD	كاشف الإلتقاط الإلكترونى
Effective concentration	التركيز الفعال
Efficiency	الفاعلية
Enzymatic methods	الطرق الإنزيمية
EPA	وكالة حماية البيئة الأمريكية
Equivalent dose	الجرعة المكافئة
Estimated daily intake	التناول اليومى المحسوب
Excitation	إثارة السائل أو الصلب
Exposure of fish and wild life to pesticides	تعرض الأسماك والحياة البرية للمبيدات
Extinction coefficiemt	معامل الإمتصاص
Extraction	الإستخلاص
Extraction and clean-up	الإستخلاص والتنقية



FAO	منظمة الأغذية والزراعة
Far-uv	الأشعة فوق البنفسجية البعيدة
FID	كاشف التأين باللهب
Flame photometer	أجهزة قياس اللهب الضوئى

Flash vaporization in continuous flow analysis	التطاير الوميضى فى التحاليل المستمرة
Flow	الإنسياب
Flow rate	معدل الإنسياب
Fluidization	السيولة
Food consumption	معدل إستهلاك الغذاء
Formulation quality control check	إختبارات تقدير الجودة للمستحضرات
Formulations	مستحضرات المبيدات
Fortification	التقوية
FPD	كاشف اللهب الضوئى



G.C. "Gas chromatography"	الكروماتوجرافى الغازى
Gamma ray	شعاع جاما
Gas phase counter	عداد الحالة الغازية
GC / mass spectrometry	جهاز مطياف الكتلة مع الكروماتوجرافى الغازى
GLC "Gas liquid chromatography"	الكروماتوجرافى الغازى السائل
GLP	العمليات المعملية الجيدة



Homogenization	تجانس أو طحن العينات
HPLC "high pressure liquid chromatography"	كروماتوجرافى السائل عالى الأداء
Hybridoma	تكنولوجيا التهجين
Hybridomas	خلايا مدمجة بعد زراعتها



Immersion counter	عداد الغمر
Immuno assays	التقييم الحيوى بأجهزة المناعة
Immuno chemistry	كيمياء المناعة
Immunoassay	التحليل المناعى
In vitro	خارج الخلايا الحية

Indicator compound	المركب الدليل
Infrared spectrophotometric	القياس اللونى بالأشعة تحت الحمراء الأسبكتروفوتومترية
Instrumental methods	الطرق التى تستخدم الأجهزة
Internal standards	المواد القياسية الداخلية
International group of national associations of Manufacturers of agro-chemical products	المجموعة الدولية للروابط القومية لصناع المنتجات الزراعية
International standard organization	الهيئة الدولية للمواصفات القياسية
Ion-exchange resins	راتنجات التبادل الأيونى
Ionization	التأين
IR	الأشعة تحت الحمراء
ISO guide	دليل المواصفات القياسية
Isothermal	نظام العمل على درجة حرارة ثابتة
Isotope	النظير

J

JMPR	اللجنة المشتركة لمنظمتى الفاو والصحة العالمية



Labeling and isotope methods	التشعيع وطرق النظائر
Labelling	تشعيع المبيدات فى وضع معين
Lethal concentration	التركيز المميت
Lethal dose	الجرعة المميتة
Lipophilic	محب للدهن
Liquid / Liquid solvent extraction	الإستخلاص بالمذيبات
Liquid detector	كشاف السوائل
Liquid flow	الإنسياب المستمر للسائل
Liquid scintillation	عداد السائل
Loadability	تحميل العمود



Maintenance of overall analytical performance	المحافظة على كفاءة التحليل
Manometric method	الطريقة المانومترية
Markers	المعلمات
Mass spectrometer	جهاز قياس الكتلة
Maximum absorption	أقصى إمتصاص
Maximum daily intake (MDI)	أقصى تناول يومى إفتراضى
MCD "Minimal concentration determined	التركيز الأدنى الواجب تقديره فى العينة
MDO "Minimum detectable Quantity"	أقل كمية يمكن تقديرها
Mechanism	الفعل (ميكانيكية الفعل)
Mechanism of action	تقنية الفعل
Median lethal dose (MLD)	الجرعة الوسيطة القاتلة
Median lethal time	الوقت الوسيط القاتل
Medical Science and Automic energy Agency	وكالة العلوم الطبية والطاقة الذرية
Metabolism	تمثيل المبيدات
Metabolites	نواتج التمثيل
Micelles	جسيم دقيق
Minimum absorbance	أدنى إمتصاص
Mobile phase	الطور المتحرك
Mode of detections	نظام الكشف
Monitoring	الإستكشاف
Monochromator	خلية ضوئية
Monoclonal	جسم مضاد وحيد
MRL's Maximum residue limits	المستويات القصوى للمخلفات
Mutagenic	تأثير طفرى



No observale adverse effect level (NOAEL)	مستوى المخلفات التى لا تحدث تأثيرات معاكسة
Non-detected	لم يتم الكشف عنها
Nuclear disintegration	التحطم النووى
Nuclear magnetic resonance (NMR)	جهاز الرنين النووى المغناطيسى



Obligatory operations	العمليات الإجبارية
Optical absorbance	الإمتصاص الضوئى
Optical density	الكثافة الضوئية
Optimisation	الأمثل



P. value	معامل التجزيئ
Paper chromatography	كروماتوجرافى الورق
Paper technique	إستخدام الإختبار الورقى
Parent compounds	المركبات الأساسية
Parent radio active product	المنتج النشط إشعاعياً
Participation in collaborative studies / ring tests	الإشتراك فى دراسات مشتركة / إختبارات الحلقة
Partition	التجزئى
Partition distribution	التوزيع التجزيئى
Pesticide residue intake	تناول مخلفات المبيدات
Pharmacokientic	دراسات حركية للكيميائيات
Photometer	أجهزة القياس الضوئى
Pilot trial	التجارب والإختبارات الأولية
Planimetry	الطريقة البلانيمترية
Polycolnal	مضادات البلازما المتعددة الأنظمة
Post-column derivatization	عمود الإشتقاق

Potential	فرق الجهد
Potentiometric method	طرق قياس الجهد
PPb "Part per pillion"	جزء فى البليون
PPm "part per million"	جزء فى المليون
Per-analysis requirements	متطلبات ما قبل التحليل
Precision	الأحكام



Quality control	تقدير الجودة
Quantitation	التحليل الكمى



Radiation	الإشعاع
Radiation absorbed dose	الجرعة الممتصة
Radio activity	النشاط الإشعاعى
Radiometric	طرق التقدير الإشعاعى
Rate of recovery	معدل الإسترجاع
Recovery	معدل الإسترجاع
Recovery studies	دراسات الإسترجاع
Reference	المادة القياسية
Regulatory analysis	التحاليل المنتظمة
Relative retention time	وقت الإحتجاز النسبى
Relative Rf value	معامل الإنسياب النسبى
Reliability	موثوق بها
Repeatability	حساب التكرارية
Repeatability & reproducibility	التكرارية وإعطاء نفس النتيجة
Rcproducibility	التكرار والتأكد
Rcsidues	متبقيات المبيدات
Response	إستجابة
Retention index	دليل الإحتجاز

Retention time	الوقت اللازم مروره من وقت الحقن وحتى ظهور قمة المنحنى (وقت الإحتجاز)
Retention volume	الحجم من الغاز اللازم لإخراج المركب
Rf "Rate of flow"	معدل الإنسياب
Rf value	قيمة معامل الإنسياب
Risk	الضرر (الخطر)
Roentgen (r)	جرعة التعرض الإشعاعي
Rotary vaccum	التبخير الدوراني بالتفريغ
RRf "Relative Response factors"	معامل الإستجابة النسبية
RRT "Relative retention time"	وقت الحبس النسبي
Running time	وقت الفصل

S



Safety	الأمان
Saponification	عملية التصبن
Scintillation	وميض السائل
Screening	الكشف الروتيني
Selectivity	التخصص
Self absorption	الإمتصاص الذاتي
Semi-quantitative	شبه كمي
Semiquantitative determination	التقدير نصف الكمي
Sensitivity	الحساسية
SFC "Supercritical fluid chromatography"	الكروماتوجرافي السائل فائق الحد
Shelf life	فترة التخزين على الرف
Simulated field tests	الإختبارات التي تحاكي الحقيقة
Site of action or receptor	المستقبل أو مكان التأثير
Solvolysis	تحلل مائي بالمذيب
Specific absorption	الإمتصاص النوعي
Specific activity	النشاط النوعي
Specific methods	طرق متخصصة

Specifications	المواصفات
Specificity	التخصص
Spectrophotometric	طرق الكشف عن المبيدات بالوسائل الإسبكتروفوتومترية
Spectroscopic	الخواص الطيفية
Standard calibration curves	المنحنيات القياسية للمبيدات
Static	النظم الساكنة
Stationary phase	الطور الثابت
Steam distillation	التقطير بالبخار
Sub-sampling	العينات المجزئة (تجزئ العينات)
Super critical fluids	السوائل الفائقة التميز (الحرجة)
Systemic	جهازى

T

Teratogenic	تشوهات العمود الفقرى
Thermoionic	الومضات الحرارية الأيونية
Titrimetric method	طريقة المعايرة أو التنقيط
TLC "thin layer chromatography"	كروماتوجرافى الطبقة الرقيقة
Tolerance	مستوى التحمل
Toxicity	السمية

U

Ultraviolet U.V.	الأشعة فوق البنفسجية
Utilization of precision data	إستخدام بيانات الدقة
Uv-detection	كشاف الأشعة الفوق بنفسجية



Vacuum rotary evaporator	المبخر الدوار تحت التفريغ
Validation of methods	صلاحية الطرق
Visible	الضوء المرئى
Visual	الألوان المرئية
Visual colorimeter	جهاز قياس الألوان المرئية

الفصـــل الأول

– المبادئ الاساسية فى تحليل وتقدير مخلفات المبيدات

أولاً : المقدمـــة .

ثانيا : تعريفات خاصة بمخلفات المبيدات .

١ – ما المقصود بمخلفات المبيدات .

٢ – مخلفات المبيدات المعنوية .

٣ – وصف المخلفات .

٤ – التناول اليومى للمخلفات .

٥ – اقصى تناول يومى افتراضى .

٦ – التناول اليومى المحسوب .

٧ – اقصى تناول يومى محسوب .

٨– التناول اليومى المقبول للمبيد .

٩ – مستوى المخلفات التى لا تحدث تأثيرات معاكسة ملحوظة .

١٠– الضرر او الخطر .

١١– معدل استهلاك الغذاء .

١٢– العمليات الزراعية الجيدة .

١٣ – لجنة الدستور الخاصة بمخلفات المبيدات .

١٤ – وثيقة او دليل الحدود القصوى لمخلفات المبيدات .

١٥ – اللجنة المشتركة لمنظمة الفاو والصحة العالمية لدراسة وضع المخلفات .

١٦ – دور لجنة الدستور الخاصة بمخلفات المبيدات .

ثالثا : قائمة ومهام ومسئوليات العاملين بمعمل تحليل مخلفات المبيدات .

١ - مدير المعمل .

٢ - مسئول عمليات الاستخلاص .

٣ - مسئول تنظيف العينات .

٤ - مسئول معمل التقييم الحيوى .

٥ - مسئول العينات فى معمل تحليل المخلفات .

٦ - مسئول معمل التحليل .

٧ - مسئول معمل الاجهزة .

٨ - المسئول عن تنظيف الادوات وحجرة العينات .

رابعا : قائمة بالاجهزة التى يجب توفرها فى معمل تحليل وتقدير مخلفات المبيدات .

خامساً : قائمة بالجواهر الكشافة فى معمل تحليل مخلفات المبيدات .

- اهمية المعرفة باساسيات تحليل مخلفات المبيدات وتجنب مشاكلها .

بسم الله الرحمن الرحيم

المبادئ الاساسية في تحليل وتقدير مخلفات المبيدات

أولا : مقدمـــــة :

* ان التطور التاريخى للمبيدات يوضح بصورة قاطعة نوعيتها وطرق التطبيق ومجالات الاستخدام وكيفية احداث التأثيرات السامة بداية من المواد الغير عضوية كالزرنيخ والرصاص والفلورين وغيرها . ثم المواد ذات الاصل النباتى والمدخنات الغازية وانتهاء بالمركبات المختلفة العضوية التابعة للمجموعات الفعالة المختلفة الكلورينية والفوسفورية والكارباماتية والبيرثرينات المخلقة وغيرها . وهذه المبيدات قد تكون متخصصة لمكافحة آفة معينة « حشرة – فطر – طحلب حشائش – لا فقاريات – فقاريات ... الخ) . وقد تكون عامة او متعددة الاغراض لمكافحة اكثر من آفة .. لقد مر زمن طويل منذ ادخال هذه السموم فى مكافحة الآفات ظهرت خلالها العديد من العيوب والآثار الجانبية الضارة والكوارث البيئية الرهيبة بعضها سجل وبعضها ظل فى طى الكتمان والسرية عمدا او بشكل غير مقصود .. وعلى الجانب الاخر لا يمكن انكار ما حققته المبيدات من فوائد فى القضاء على الآفات الزراعية ومن ثم زيادة الانتاجية وتحقيق برامج الامن الغذائى فى العديد من الدول المتقدمة والنامية على حد سواء ... ومن هذين المنظورين برز مفهوم الفائدة فى مقابل الضرر لمن يستخدمون المبيدات والمكافحة الكيميائية .

* من المؤسف الاشارة الى ان مفهوم الآفة والطوفان كان هو السائد عند بداية التعامل مع المبيدات والنشوة من جراء استخدامها حيث لم تكن هناك اية اعتبارات للتأثيرات الجانبية الضارة والسمية الناجمة عنها منظورة كانت ام خفية اى على المدى القصير او الطويل او تسمم حاد أو مزمن . ولم تكن هناك معايير للسمية اللهم الا معيار الجرعة او التركيز القاتل لنصف عدد حيوانات التجارب . ولقد تكونت قناعة خاطئة تسببت فى العديد من الكوارث التى تم تسجيل بعضها بينما لم تسجل غالبيتها تتمثل فى انه بزيادة عدد مرات استخدام المبيدات او زيادة التركيزات المستخدمة ستحقق فعالية افضل ، ومن ثم حدث اسراف شديد فى استخدام هذه السموم مما ادى لحدوث مستويات عالية جدا من مخلفات المبيدات فى جميع المكونات البيئية وبدون استثناء بداية بالنباتات والتربة والهواء والماء والغذاء وبجميع انواعه . وعندما تمادى الانسان فى التوسع فى استخدام المبيدات الثابتة حدث ما لم يكن فى الحسبان حيث تفاقمت مشكلة هذه المركبات ومخلفاتها فى البيئة ، ومازالت باقية حتى الآن بالرغم من ايقاف استخدامها فى معظم دول العالم شاهدا ودليلا على جريمة العصر ، وما استتبع ذلك من مخاطر بيئيـــة شديدة على الانسان خاصة .

* المقصود بتحليل المخلفات يتمثل فى الكشف عن محتوى المبيد من المادة الفعالة والتاكد من مطابقتها لما هو معلن ومكتوب فى النشرات وعلى العبوات وفى بطاقات التسجيل وكذلك التأكد من مواصفات هذه المادة الفعالة والمستحضر بصورة شاملة ، ومن هذا المنطلق لا يمكن الفصل بين تحليل المستحضرات والمخلفات فقد تتماثل طرق الكشف فى كليهما ولكن الفرق يتمثل فى الدقة المطلوبة للتقدير وحدود المستويات المطلوب الكشف عنها حيث يسمح بنسبة من

الخطأ فى تحليل المستحضرات بينما لا يسمح بذلك فى المخلفات . لقد ظهرت فى السنوات الاخيرة نعرات شخصية لبعض البحاث فى الجامعات ومعاهد البحث العلمى يدعى اصحابها انهم متخصصون فى تحليل المبيدات وهذا يجانبه الصواب .. لأن التحليل فن وذوق وممارسة وخبرة . ان رجل التحليل يختلف عن القائم بالتحليل ، فالأول هو مكتشف طريقة التحليل نفسها او من اضاف تحويرات على طريقة معروفة تحقيقا للدقة تسهيلاً للكشف ، اما ممارس التحليل يتمثل فى باحث او فنى عنده مبادئ هذا العلم ويقوم بتنفيذ خطوات متتابعة تؤدى فى النهاية للكشف عن المخلفات .. ولست فى حاجة للتأكيد ونحن على مشارف القرن العشرين ان الطفرة التى حدثت فى الاجهزة العلمية رهيبة فلعبت ادوارا كثيرة كان يقوم بها الانسان للكشف عن الكيميائيات . والآن اقول بكل صراحة ان الباحث الحقيقى فى هذا المجال هو الذى يستطيع نتيجة للخبرات الكثيرة التى تحصل عليها من ممارسة التحليل استقراء النتائج وتمثيلها والخروج باستنتاجات حقيقية بعيدة عن النزعات والاهواء الشخصية .

* لا يمكن للقائمون على تحليل المبيدات الاستئثار بنزعة الوحدانية فى هـذا المجال حيث لا بد – بل من الضرورى – ان يتعاون الجميع فى مجالات المبيدات والكيمياء الحيوية والعضوية والتحليلية والاجهزة والبيولوجيون .. وغيرهم فى سبيل الوصول الى افضل الطرق والوسائل فى الكشف عن مخلفات المبيدات فى اى من مكونات البيئة . ان نظرة متأنية لاى طريقة تحليـل لاى مبيد توضح الجهد والعرق اللذين بذلا فى سبيل وضع هذه الطريقة بداية من اخذ العينـات والوزن والتجهيز والاستخلاص والتنقية وما قبل التقدير ثم التقدير نفسه وتمثيل النتائج وعمل المنحنيات القياسية الى اخر هذه الخطوات . وليكن معلوما ان اى تجاهل لاساسيات المعـرفة المختلفة فى مجالات الكيمياء والطبيعة والبيولوجى كفيلة بفشل التحليل تماماً ، كم من كوارث حدثت من جراء عدم فهم خطورة مهمة القائم بالتحليل .

* منذ بداية استخدام المبيدات وحتى اوائل السبعينيات كانت المهام الملقاة على القائم بالتحليل سهلة وقليلة بسبب قلة عدد المبيدات التى كانت موجودة فى ذلك الوقت من ناحية وبدائية الاجهزة التى كانت سائدة مقارنة بما هو موجود حاليا ، وكذلك غياب الاعتبارات البيئية الخاصة بالتلوث والأمان ، ولم يكن مطلوباً لتسجيل المركب أية بيانات عن المخلفات عكس ما هو ضرورى الآن ولم يكن المنتج على دراية امينة بمخاطر المبيدات والتأثيرات الجانبية على الصحة العامة ، كما كان القائمون على التحليل على دراية باساليب الكشف عن المركبات الغير عضوية مثل الزرنيخ والرصاص والروتينون وكذلك المركبات النباتية الأصل كالنيكوتين والروتينون والبيرثروم وغيرها . اما الآن فقد تنوعت انواع المبيدات بدرجة مذهلة وتثير الاعجاب حتى أن الكشف عن مركب واحد الآن نوعا من الرفاهية والندرة حيث أن الاسراف فى استخدام المبيدات واللجوء الى الخلط العشوائى أدى الى تواجد أكثر من مبيد فى نفس المكون البيئى مما دعا الى تطوير طريقة الكشف المتعدد للمخلفات Multi-residue analysis ، ومن ثم اصبحت مهمة القائم بتحليل المبيدات خاصة المخلفات صعبة بل شديدة الصعوبة ، وهذا يتأكد من القاء نظرة على البحوث المنشورة والتقارير الرسمية الخاصة باستكشاف تواجد المخلفات فى المكونات البيئية المختلفة .

* لقد ذكرت مقولة لا يمكن ان تنسى فى المرجع العظيم الذى كتبه استاذ التحليل Gunther وزميله Zweig من ان القائم بالكشف عن مخلفات المبيدات فى الوقت الحالى كمن يبحث عن ابرة فى كومة كبيرة من القش ، ويااليتها تكون ابرة بل كميات غاية فى الصغر تتراوح من اجزاء فى المليون الى اجزاء فى البليون ($١٠^{-٦}$ – $١٠^{-٩}$) وقد تقل عن ذلك لتصل الى $١٠^{-١٢}$ – $١٠^{-١٨}$ على خلاف ما هو معروف مع مستحضرات المبيدات حيث الكشف عن ملليجرامات او اقل قليلا هو الهدف . ان الكشف عن اجزاء فى المليون يعنى الكشف عن واحد ميكروجرام فى جرام من المادة . ولما كانت امكانيات التحليل فى المعامل المجهزة فى الدول النامية لا تستطيع ان تكشف اقل من ١٠ ميكروجرام لذلك كان على القائم بالتحليل تقدير مخلفات المبيد فى ١٠ جم وما يقابل ذلك من عقبات كثيرة فى اخذ العينات وتجهيزها والاستخلاص والتخلص من الشوائب وهى كثيرة والتى من الممكن ان تتداخل مع الكشف النهائى عن المبيد نفسه .

* على القارئ ان يتصور صعوبة الكشف عن مخلفات مبيد او مادة هورمونية فى ثمرة خوخ مرشوشة او مزروعةفى ارض ملوثة او تروى بماء ملوث ، ولنا ان نخمن كميةالمبيد المتوقع وجودها وهى فى كثير من الاحيان تكون غاية فى الصغر ولا يمكن الكشف عنها ، وفى هذا المقام اود الاشارة الى ان بعض الزملاء البحاث عند تقدير مخلفات المبيدات وعندما لا تتمكن وسائل الكشف من تحديد الكمية يذكر الباحث الرقم (صفر) اى لا توجد مخلفات فى العينة محل التحليل ، ومن الافضل ان يذكر بدلا من ذلك انه يتوقع وجود كميات غاية فى الضآلة لم يتمكن من الكشف عنها "Non-detected" .. ونفس الشئ يقال على مستويات المبيدات فى مياه الشرب ونهر النيل والأعشاب التى تستخرج منها الأدوية والعقاقير الطبية واللحوم بانواعها المختلفة واللبن ومنتجاته والخضر والفاكهة الطازجة والمعلبات وعسل النحل .. . الخ ، بالاضافة الى المواد الاضافية التى تضاف للغذاء بهدف الحفظ او التلوين او مكسبات الطعم وغيرها . وللخروج من هذا الوضع يجب الإلمام بمفهوم وامكانيات الاختبارات التأكيدية او "Confirmatory tests" سواء كانت كيميائية او حيوية . وهناك اسلوب التقوية "Fortification" أى اضافة كمية معلومة من المبيد القياسى الى العينة الخالية منه كما اوضحت التقديرات ثم قياس الاستجابة وحساب الفرق ان وجد بما يدل على وجود مخلفات فى العينة .

* الخبرة الشخصية للقائم بعملية التحليل فى غاية الاهمية . فالشخص الخبير يستطيع ان يصل للهدف بأقصر وأسهل الطرق مما يوفر الوقت والجهد والكيميائيات ومن ثم تقليل تكاليف التحليل والتى أصبحت باهظة فى الوقت الحالى . لا يمكن تصور ما حدث فى احد المعامل حيث شاهد مؤلف هذا الكتاب احد الزملاء يختبر كل ما هو موجود فى معمله من جواهر كشافة ملونة للكشف عن أحد المبيدات بشكل عشوائى . مع ان الاجتهاد مطلوب لكن له حدود وضوابط فلا يوجد مبيد بدون طرق (اكثر من طريقة) للكشف عن مخلفاته فى جميع الأوساط البيئية وكذلك تقدير نسبة المادة الفعالة فى مستحضراته . ففى الوقت الحالى لا أتصور ألا يكون القائم بالتحليل

على دراية بنوعية الكشاف فى أجهزة الكروماتوجرافى الغازى الذى يستخدم مع المبيدات الكلورينية أو الفوسفورية او الكاربامات وحدود الطرق الحيوية الانزيمية وشروط الكائن الحى الذى يستخدم فى الاختبار . ونفس الشئ يقال على عمل المنحنى القياسى للمبيد وكيفية الاستفادة به ومفهوم عينات المقارنة Blank وضرورتها . وعلى القائم بالتحليل أن يتعلم أسس الطرق الاسبكتروفوتومترية والكروماتوجرافية واستخدام النظائر المشعة والبيوكيميائية والحيوية وغيرها .

* تجدر الاشارة الى أن تقدير المخلفات ليس معناه بالضرورة توفر معامل متقدمة بها أجهزة متقدمة كالكروماتوجرافى الغازى العادى او ذو المقدرة الفائقة والاسبكتروفوتوميتر وغيرها ولكن الأهم هو توافر الخبرات والفنيين والكفاءات المدربة بصرف النظر عن الشهادات العلمية التى تحملها وعلى نفس المستوى يجب أن يتوفر فى المعمل الزجاجيات المناسبة والجواهر الكشافة والأجهزة الملائمة حتى وان كانت بدائية . واود القول انه لا غضاضة ولا ينقص من كفاءة أى باحث ان يتلقى دورات تدريبية عن أساسيات تحليل المبيدات فما زلت اتذكر بالعرفان الدورة التدريبية التى شاركت فيها وتلقيت تدريبا عن كيفية تجهيز الزجاجيات الخاصة بتقدير مخلفات المبيدات باستخدام اجهزة الكروماتوجرافى الغازى والتى عقدت بكلية الزراعة جامعة الاسكندرية بالتعاون مع الجامعات الامريكية فى الثمانينيات . واكرر أن تجاهل الأساسيات والاشياء الصغيرة قد تكون سببا فى فشل التحليل . هل يمكن تصور استخدام ماء الحنفية بما فيه من كلور فى تقدير المبيدات الكلورينية بالطرق العيارية او بالكروماتوجرافى الورقى .

* قد يتجاهل القائم بالتحليل عينة المقارنة ومن ثم يتحصل على بيانات خاطئة تماما قد تبنى عليها سياسات او تتسبب فى فشل بروتوكولات تقدير المخلفات ، فقد مررت بتجربة من هذا القبيل أثناء اجراء تجاربى فى الماجستير على موضوع « مآل بعض المبيدات فى التربة » حيث احضرت عينات من التربة السلتية من احد الجزر التى كانت تظهر فى النيل بعد انحسار مياه الفيضان وتم معاملتها بمبيد السيفين ٨٥ ٪ الكارباماتى بتركيز معين وقمت بالكشف عن مخلفات المركب بعد فترات مختلفة وبعد تعريض التربة لمعاملات معينة كالحرارة والرطوبة والتعقيم وغير ذلك ، وعند التقدير وجدت أن كمية المبيد المسترجعة تعادل عشرات الأضعاف لما قمت باضافته فى بداية التجربة وكانت مشكلة كبيرة حاولت معرفة السبب وبعد مجهود مضنى اكتشفت ان التربة السلتية تحتوى على مجموعة الالفانفثول بكمية كبيرة جدا وهى نفس المجموعة التى يتحول اليها مبيد السيفين بعد اضافة الصودا الكاوية وهى التى تعطى اللون الأزرق مع صبغة الديازونيوم . من هذا الوقت وأنا احذر زملائى من خطورة تناسى تجربة المقارنة عند تقدير المخلفات حيث ان الجواهر الكشافة القياسية اذا اضيفت الى بعضها يتكون لون قد يتداخل مع التقدير اللونى للمبيدات خاصة التقديرات الانزيمية .

* ما زالت عمليات الكشف وتقدير المخلفات فى مصاف الفنون حيث لا يعتبر من العلوم البسيطة التى يمكن الالمام بفنونه وخباياه لغير المتدربين او عديمى الخبرة . ومن المؤسف وضع بعض الافتراضات الغير ملتزمة والغير واقعية من قبل رؤساء المعامل ومسئولى التحليل فيما يتعلق

بالقياس وصلاحية الطرق دون الرجوع للدراسات السابقة أو لذوى الخبرة من منطلق المكابرة ومحاولة اثبات الذات مما يجعل من تمثيل النتائج أضحوكة للعاملين فى هذا المجال . ولا يمكن انكار وجود خلافات بين المعامل المختلفة وحتى بين رجال نفس المعمل فى قيم ونتائج تحليل نفس العينة بالرغم من اتباع الجميع لاسلوب واحد وطريقة واحدة بسبب الإختلاف فى الخبرة وتداول العينات وحساسية الافراد وقد تصل هذه الإختلافات حدودا كبيرة لذلك اتفق دوليا على ارسال العينة الواحدة لأكثر من معمل تحسبا للدقة ولقد حاولنا جاهدين اقناع الزملاء مسئولى التوصيات فى مصر بضرورة اشراك معامل أخرى مع المعمل المركزى للمبيدات فى تحليل العينات وكان ذلك من اغرب الامور التى اعترضنا عليها بسبب ادعاء البعض بوحدانية التحليل متناسين تواصل الاجيال ومقدرة الشباب الصاعد فى هذا المجال .. واخيرا وبعد جهد جهيد تحقق ما طالبنا به لسنوات طويلة .

* يجب أن يتوفر فى معمل التحليل ثلاجة خاصة ذات تبريد كبير تحتوى على العينات القياسية للمبيدات ولا اتصور ان يخلو أى معمل يعمل فى مجال الكشف عن المخلفات من هذه العينات Standards وانصح بعدم الاعتماد على الغير فى الحصول عليها حيث أن هناك مصدرين موثوق فيهما الأولى الشركات المنتجة وهى صاحبة المصلحة فى عدم صدور بيانات خاطئة عن مركباتها بما ينعكس على المبيعات وإستمرارية المركبات فى الأسواق . والثانية شركات الكيمائيات المتخصصة مثل Sigma وغيرها ويمكن لوكالة حماية البيئة الأمريكية EPA ان تقوم بهذا الدور . وفى مصر ومنذ سنوات تم اصدار تعليمات بعدم تجريب المبيدات الا بعد ان تقدم الشركات العينات القياسية لها وتم تنفيذ ذلك ولا أحد يعلم أين هذه المركبات التى كان من المفروض أن تكون فى متناول من يطلبها وتبعا لبروتوكولات معينة يوافق عليها مسئولى الرقابة وبحوث البيئة . ولكم حذرت الزملاء بضرورة التأكد من نوعية المادة الفعالة ونسبة المركب فيها قبل اجراء تجارب تحليل المخلفات فى حالة حصولهم عليها من غير المصادر السابقة أى من زملاء اخرين مثلا . ويجب أن تخضع حركة المواد الفعالة بين المعامل المختلفة لعملية التدوين فى سجلات رسمية يوضع فيها جميع البيانات الخاصة بالعينة ومواصفاتها وظروف التخزين والتداول .

* من أهم العوامل المحددة لكفاءة تقدير مخلفات المبيدات ودقتها ومدى تمثيلها لواقع العينات من حيث عددها وأسلوب جمعها والحصول عليها ونقلها من مكان التجارب الى المعامل واسلوب تقسيمها الى تحت عينات صغيرة والحفظ والتخزين . لا يراودنى شك فى أن اختلاف النتائج يرجع فى المقام الاول الى عدم الدقة فى أخذ والتعامل مع العينات . ومن المؤسف أنه ومع معرفة جميع العاملين فى مجال مخلفات المبيدات بأهمية هذه العامل الا أنهم وبدون استثناء يوكلون مسئولية هذا العمل إلى عمال المعامل غير مدركين لخطورة الموقف واحيانا يكون التحيز سمة غالبة على بعض ضعاف النفوس فيجمعون العينات من أماكن متفق عليها لصالح هيئة ما ، وقد يكون الجهل هو المسئول ولا تقبل اعذار من قبل مسئولى المعامل لأية قصور فى هذا المجال . من يقول ويصرح بجمع الاوراق النباتية المرشوشة من الأوراق العليا فقط أو من حواف الحقل ونفس الشئ فى عينات الاسماك واللحوم والماء والهواء ... الخ .

* تؤخذ اعتبارات عديدة عند تصميم تجارب المخلفات من أهمها وضع برنامج دقيق لاخذ العينات ونظام التحليل ومن الضرورى أن تؤخذ نتائج المخلفات من عدد اعتبارى من التجارب ومن مناطق جغرافية متعددة وخلال فترات متماثلة من السنة ومن حقول تماثلت فيها العمليات الزراعية . يجب أن تجرى معظم تجارب المخلفات بإستخدام المستحضرات التجارية للمبيدات حيث لا معنى لاجرائها بتحضيرات معملية لأن سلوك المبيد لابد وأن يتأثر بطبيعة المستحضر . وقد أجريت دراسة فى اواخر الستينيات ثبت منها تأثير هذا العامل بدرجة كبيرة على مخلفات وتمثيل بعض المبيدات الفوسفورية على الخضر والفاكهة فى مصر . كما يجب اجراء تجارب المخلفات بتطبيق المبيد بنفس الآلات التى يستخدمها الفلاح وبنفس الاسلوب مع الحرص الشديد على ضرورة تحقيق تجانس فى توزيع المركب على الوسط محل الدراسة .

* ولقد حذرنا مرارا ومازلنا من ضرورة اجراء تجارب المخلفات فى مناطق معينة وبأسلوب يتفق مع البروتوكولات العالمية فى هذا الشأن والذى اقرته اللجان المعنية بهذا الموضوع فى منظمة الاغذية والزراعة FAO . فلا معنى للكشف عن المخلفات فى الخضر المزروعة فى أرض ملوثة لم يجرى تحديد درجة ونوعية الملوثات بها ونفس الشئ فى الاسماك . ليكن معلوما بوجود العديد من العوامل التى تؤثر على تواجد المخلفات ومن أهمها طبيعة وتركيب المبيد والكمية المستخدمة منه ووقت التطبيق وأسلوبه ايضا ولا يمكن اغفال حدوث تداخلات بين تأثيرات هذه العوامل ومن ثم وجب أن تؤخذ فى الاعتبار . وما زال فى الذاكرة وخلال اشتراكى فى أحد المؤتمرات بكلية الزراعة جامعة الاسكندرية أن نتائج احد البحوث أعطت رقما واحدا للمخلفات عند رش احد المبيدات وعلى محاصيل خضر مختلفة بعد الرش مباشرة وكأن طبيعة السطح المعامل لا تلعب اى دور فى هذا الخصوص .

* لا بد من الإشارة الى أهمية عدد المكررات خاصة فى تجارب المخلفات ، وقد لاحظت انه بسبب غلو وارتفاع أسعار الجواهر الكشافة المستخدمة فى تقدير المخلفات لجوء بعض البحاث الى تقليل عدد العينات بل وعدد المكررات بدرجة تحيز مقبولة تحت دعوى أنه لا داعى لاجراء تحليلات احصائية لتأكيد معنوية النتائج التى اسفر عنها التحليل . فى هذا المقام اؤكد مرة أخرى على ضرورة وحتمية الالتزام ببروتوكولات تقدير المخلفات وضرورة العمل على عينات ممثلة للواقع وكذلك التعامل مع الحد الأدنى من المكررات وهذا أضعف الايمان . ولقد كنت مع الذين لا يؤمنون بالتحليل الإحصائى لنتائج المخلفات ولكنى الآن اؤكد على ضرورة إجراء تحليلات المعنوية وتحديد معايير المخلفات للمقارنة بين المعاملات المختلفة .

* عند اجراء تجارب المخلفات يجب أن تجرى على مستويين من التركيزات الأول الموصى به والثانى ضعف ذلك التركيز مع ضرورة التأكد من عدم انجراف المبيد من قطعة تجريبية لأخرى عن طريق وضع الحواجز وتوجيه الرش بما يقلل من انتقال المبيد من نقطة لأخرى . قد يؤدى حرص القائم على تجارب المخلفات من الحصول على نتائج دقيقة وممثلة للواقع الى قيامه بجمع جميع النباتات الموجودة فى القطعة التجريبية ، وهذا هراء كبير ، ولا يعتبر ضمانا لتحقيق هذا الهدف .

ومن الافضل ضمان التصميم الجيد لتجربة المخلفات وضمان التوزيع المتجانس للمبيد فى داخل القطعة التجريبية الواحدة وبنفس المنوال فى جميع القطع الأخرى . كما يجب تجنب حدوث اى تلوث للعينات الحقلية خلال عمليات أخذ العينات والنقل والتخزين والعمليات التالية للتجهيز وغيرها .

* من المؤسف القول أنه فى كثير من الدول النامية ومن بينها مصر لا يستفاد من نتائج المخلفات فى حالة توفرها حيث أن عدم التزام الفلاحون بفترة الأمان ما بين استخدام المبيد والجمع والتسويق تجعل من غير الممكن بل من المستحيل تحديد صورة واضحة ودقيقة للمخلفات فى المحاصيل خاصة تلك التى تؤكل طازجة ولتفادى هذا الوضع يجب التشديد على احترام فترة الأمان وتغريم كل من يخالفها لخطورة ذلك على صحة المستهلك المحلى وتسببها فى فشل سياسة التصدير للدول المتقدمة . والامثلة كثيرة وصارخة بداية من البطاطس والخضر ونهاية بالنباتات العطرية .. ومن المشاهد المألوفة أن نجد بطاطس بيضاء اللون بسبب مساحيق التعفير الخطيرة وهذه البطاطس كانت معدة اصلا للتقاوى وليس للاستهلاك ولكن ولأسباب بعضها معروف ومعظمها مجهول تجد طريقها للاسواق . ولقد سعدت عندما الغى تسجيل مبيد السومثيون ٣ ٪ مسحوق تعفير من التوصيات بسبب وجود مخلفات داخل البطاطس حفاظا على صحة المستهلك المصرى الكريم بالرغم من تبعية هذه المركب للشركة التى اقدم لها الاستشارات العلمية وبالرغم من تقييد إستخدامه على التقاوى .

* اكرر مرة اخرى انه لا اجتهاد فى طرق تحليل المخلفات اذا كان ذلك يتم بهدف التسجيل او الرقابة او التصدير ، وعلى القائم بهذه المهمة الشاقة فى معامل التحليل ان يتبع البروتوكول بحذافيره دون تعديل مهما كان طفيفا . ليس من مهمّة هذا الرجل ايجاد طريقة جديدة للكشف عن مبيد ما ولكن هذه مسئولية البحث العلمى فى معامل الجامعات والشركات المنتجة للمبيدات . ان محاولة اجراء تعديل ولو طفيف فى طريقة التحليل المعروف لمبيد ما بما يتلاءم مع محصول او عينة ذات طبيعية خاصة ليس بالأمر السهل ويتطلب مهارات خاصة وخبرات فائقة . أن اختيار الطريقة المناسبة للتحليل من اصعب الامور فى مجال المخلفات حيث المسئولية تتمثل فى الكشف عن المركب الاصلى ونواتج تمثيله وتحويله فى الوسط مجال التحليل كميا ونوعيا . يجب أن تتميز الطريقة بالبساطة والسهولة وامكانية التنفيذ بالاضافة الى الحساسية الفائقة لأننا بصدد الكشف عن اثار كما سبق القول ويجب ان تحدد حساسية الطريقة على كل سلعة او نوع من العينات . وهو ما يعرف بمعدل الاسترجاع Rate of recovery . ان الجهل أو التجاهل الخاص بإقامة المنحنيات القياسية للمبيدات Standard calibration curves ومعدل الإسترجاع يعنى عدم خبرة والمام بمهفوم تحليل المبيدات بوجه عام والمخلفات بوجه خاص .

* ومن الضرورى بل من البديهى ضرورة وصف طريقة تقدير المخلفات بوضوح وبتفصيل كاف حتى وإن كان مملا حتى يمكن لأى مبتدئ قليل الخبرة ان يتحصل على نتائج دقيقة عند الالتزام بتنفيذ خطواتها . لا غضاضة أن تجرى عمليات تقدير المخلفات فى أكثر من معمل كما

سبق ، وفى حالة اختلاف النتائج يمكن تبادل العينات بين هذه المعامل دون حساسية . وما زلت اذكر الدراسة الرائدة التى تم فيها تقييم بيانات مخلفات الكارتاب على المحاصيل المزروعة خصيصا لتقدير المخلفات وإتبعت نفس طرق التحليل للكشف عن المبيد فى حدود ٠,٠٠٥ مللجم / كجم ، وقد اوضحت نتائج التحليل الاحصائى لهذه البيانات وجود اختلافات كبيرة بين المعامل المختلفة كانت تصل فى بعض الأحيان الى عشرة أمثال ، وكان التفسير أنذاك ان هذه الاختلافات ترجع الى عدم تجانس وتماثل طرق التطبيق وصعوبات أخذ العينات .

* فى الآونة الاخيرة شاع استخدام مسئولى تقدير المخلفات للعينات القياسية الداخلية Inter-nal standards ولا غضاضة فى ذلك لأهميتها ودقة الاعتماد عليها لتصحيح اخطاء القياس والتقدير بصفة شاملة . وتماديا مع هذا الوضع تناسى المسئولين اهمية المنحنى القياسى ومعدل الاسترجاع . وقد شاهدت بنفسى بعض الزملاء فى أحد المصانع يقيم المنحنى القياسى بنقطة واحدة وهذا هراء كبير .. لقد استفدت شخصيا وزملائى من أهمية المواد القياسية الداخلية حيث كنا نعانى من نقاوة الجواهر الكشافة وتذبذب التيار الكهربى وتفاوت كفاءة القائمون بالعمل .. لذلك وجب ترسيخ مفهوم الاستفادة المثلى من كل ما هو متاح من وسائل وتكنولوجيا تؤدى الى الحصول على بيانات دقيقة من المخلفات الخاصة بالسموم ومن بينها المبيدات فى المكونات البيئية المختلفة .

* يجب التنويه الى أهمية ومفهوم استقراء النتائج الخاصة بمخلفات المبيدات حيث يتطلب خبرة ومهارة واعتقادى الشخصى – وقد يتفق مع الكثيرون – أنها اهم من التركيز على خطوات التحليل لان هذا الشئ متعارف عليه ... ونتساءل ما معنى وجود بيانات لا يستفاد منها ؟ لا يمكن الزام مسئولى تقدير المخلفات باجراء ذلك على جميع المحاصيل والسلع والعينات البيئية بسبب ارتفاع التكاليف والجهد والوقت كما سبق الاشارة لذلك ، ولكن اتفق من خلال المنظمات المسئولة عن مخلفات المبيدات اجراء تجارب المخلفات على محاصيل معينة تمثل مجموعات معينة بحيث يمكن باستقراء النتائج الخاصة بمحصول ما التنبؤ بوضع المخلفات على المحصول الآخر من نفس المجموعة . ولزيادة الثقة فى بيانات الاستقراء اتفق على اهمية مصاحبتها بمعلومات تفصيلية عن تمثيل ومسار اختفاء المبيد فى واحد أو اكثر من محاصيل أو عينات المجموعة . والاستقراء له محدداته وضوابطه حيث يجرى على محاصيل تنمو تحت نفس الظروف وتتشابه فى كثير من الصفات الخاصة بالنمو والشكل الظاهرى والتشريحى وغير ذلك ... ونظرا لعدم توفر هذا الاتجاه العقلانى فى الدول النامية ليس أمامنا الا ان نجرى تجارب المخلفات على جميع المحاصيل والسلع او نعتمد على البيانات التى حددتها الدول المتقدمة مثل امريكا – اليابان – انجلترا – فرنسا – المانيا . والامل ما زال معقودا على تعاون الدول العربية فى هذا السبيل حيث الامكانيات والقوى البشرية متاحة ومتوفرة .

* ان دليل تقييم وتصميم تجارب مخلفات المبيدات الذى وضعته منظمة الاغذية والزراعة (FAO) يعتبر الدستور المناسب لأى زميل يعمل فى هذا المجال . لكل مرحلة مشاكلها الخاصة ونظرتها للحلول المناسبة ومع ذلك هناك قاعدة واحدة لا تقبل التغيير ولكنها مثار جدل بصورة

مستمرة من قبل المزارعين والمصدرين للسلع الزراعية وغيرها مؤداها « حدود التقدير دائما منخفضة ولا يمكن أن تحظى بالقبول » وهناك بعض المبيدات يصل بحد المسموح بتواجده منها فى المواد الغذائية جزء أو أجزاء فى البليون وهناك محاولات مستمرة لرفع حدود هذه المخلفات مما ييسر من عمليات التصدير ولكنها تحتاج لوقت وجهد .

ولا يمكن أن أنهى هذه المقدمة دون الاشارة الى ما يعرف بالعمليات المعملية الجيدة (GLP) أى اجراء الخطوات الجيدة فى معامل التحليل وقبل الخطوة الاخيرة الخاصة بالكشف والتقدير . ونفس الشئ يقال عن مفهوم مخلفات المبيد المؤثرة Significant أو المعنوية وقبل ان نطلق على المخلفات هذا الاصطلاح يجب ان نتأكد أنها حدثت فى ظل استخدام مناسب وتحت ظروف حقيقية وليست عرضية او غير حقيقية مع الأخذ فى الاعتبار التركيب الكيميائى والمواصفات الطبيعية والكيميائية وكذلك التأثيرات التوكسيكولوجية والسلوك البيئى خاصة الثبات والانهيار والتمثيل والتحول لمركبات أخرى . ويجب ان يعبر عن المخلفات كميا ونوعيا أى ملليجرام/كيلوجرام .

تستخدم بيانات المخلفات فى تقدير المستويات القصوى للمخلفات MRL's بشرط أن يكون المبيد قد استخدم فى تجارب المخلفات طبقاً للعمليات الزراعية المناسبة (GAP) والعينات أخذت من التجارب المشرف عليها وأخذت العينات وجهزت وأجريت عمليات التقدير والكشف تبعا للعمليات المعملية الجيدة (GLP) مع الأخذ فى الاعتبار عوامل التطبيق والعوامل المتعلقة بالمحصول والبيئة وعوامل الاختفاء .

ثانيا : تعريفات خاصة بمخلفات المبيدات Definitions :

١ - ما المقصود بمخلفات المبيد A pesticide residue

أى مادة أو مخلوط من المبيدات الموجودة فى أو على أى وسط بعد استخدام المبيد ويشمل ذلك جميع نواتج تحول المركب وممثلاته ونواتج التفاعلات والشوائب وهذا التعريف تنقصه الدقة حيث لا يشير الى معنوية تواجد المخلفات . وقد اتفق فى لجنة الاتحاد الدولى للكيميائيات النقية والتطبيقية IUPAC أن تؤخذ السلع التالية فى الاعتبار عند تقييم موقف مخلفات المبيد وخطورته على الانسان والحيوان : (١) السلع الزراعية ومنها المنتجات المصنعة أو المجهزة بما فيها تلك التى يستهلكها الانسان ، (٢) السلع الزراعية ومشتقاتها من المنتجات التى تستخدم فى تغذية الحيوانات ، (٣) المنتجات الغذائية المجهزة من الحيوانات المعاملة بالمبيدات أو مأخوذة من قطيع يرعى أو يوجد فى أماكن معاملة بالمبيدات ، (٤) المنتجات المخزونة التى عوملت أو تعرضت للمبيد وتستخدم فى غذاء الانسان والحيوان ، (٥) المحاصيل المتعاقبة التى تزرع فى مناطق سبق معاملتها بالمبيدات ، (٦) مياه الشرب والهواء ، (٧) الكائنات الغير مستهدفة والتى تتعرض للمبيدات وتستخدم فى غذاء الانسان مثل الأسماك والقواقع والطيور ... الخ .

٢ – مخلفات المبيدات المعنوية A significant pesticide residue :

من الضرورى وقبل أن يطلق هذا الاصطلاح على مخلفات اى مبيد التأكد ان هذه المخلفات حدثت فى ظل استخدام مناسب وتحت ظروف حقيقية ليست تجريبية أو بغرض محاكاة الواقع . يتوقف هذا التحديد بمعنوية المخلفات على الصفات التوكسيكولوجية للمادة أو المواد الموجودة فى المخلفات ودرجة التعرض لهذه المخلفات . ويحدث تعضيد لهذا الوضع فى حالة ما اذا كان للمخلفات تأثيرات ضارة بصحة الانسان أو الحيوان أو الكائنات الاخرى غير المستهدفة عند التركيزات التى وجدت كمخلفات عند التطبيق الحقيقى فى الحقول وكذلك فى حالة المركبات شديدة الثبات فى الوسط المدروس (تربة – ماء ... الخ) على الاقل تكون فترة نصف الحياة للمركب ٦ شهور أو اكثر ونفس الشئ فى حالة تحول المبيد الى مركبات اكثر سمية وكذلك حدوث تراكم او تعاظم حيوى وهذا كله يتوقف على الخواص الطبيعية والكيميائية للمركب .

٣ – وصف المخلفات Description :

توصف المخلفات كميا ونوعيا حيث يعبر عن الكميات بالملليجرام لكل كيلوجرام من الوسط الذى توجد فيه المخلفات mg / kg-1 فى حالة الوصف النوعى يجب ان يتضمن ذلك الصفات الطبيعية والكيميائية لجميع مكونات المخلفات خاصة فى المحاصيل الطازجة التى تمثل اكثر من ١٠ ٪ من المخلفات الكلية عند اخذ العينات . عندما تكون المخلفات الكلية اقل من ١ مللجم / كجم$^{-١}$ لا تكون هناك حاجة لتقدير المخلفات من وجهة نظر بعض القائمون بالتحليل . أما فى حالة المبيدات المعروف لها تأثيرات توكسيكولوجية ضارة يجب التوصيف والتعريف للمخلفات حتى اذا كانت موجودة بتركيزات بسيطة للغاية .

٤ – التناول اليومى للمخلفات Pesticide residue intake :

يقصد بها كمية المبيدات التى يتناولها الفرد يوميا من جراء أكل وهضم الطعام الملوث بالمبيدات ويعبر عنه بالملليجرام مبيد لكل شخص فى اليوم الواحد .

٥ – اقصى تناول يومى افتراضى Theoritical Maximum daily intake (TMDI) :

وهو تنبؤ لأقصى كمية مخلفات يتناولها الانسان يوميا بناء على الافتراضات الخاصة بالحدود القصوى للمخلفات الموجودة فى المواد الغذائية ومتوسط الاستهلاك اليومى من الغذاء لكل فرد . ويعبر عن هذا المعيار بالملليجرام مخلفات لكل فرد .

٦ – التناول اليومى المحسوب Estimated daily intake :

وهو يعبر عن التنبؤ بمستوى المخلفات اليومى بناء على التقديرات السليمة لمستويات المخلفات فى الطعام والبيانات الدقيقة لمعدلات استهلاك الغذاء لمجتمع معين . وحساب المخلفات يبنى على

اعتبارات الاستخدام والتطبيق ومدى تلوث المواد الغذائية المعاملة وكمية التلوث فى المواد المحلية أو المستوردة . ويعبر عن هذا المعيار ملليجرام مبيد لكل فرد .

٧ – اقصى تناول يومى محسوب Estimated Maximum daily intake (EMDI) :

وهو التنبؤ عن اقصى كمية مخلفات يتناولها الفرد يوميا وتبنى على الافتراضات الخاصة بمتوسط الاستهلاك اليومى للفرد من الطعام وكمية المخلفات القصوى فى الاجزاء التى تؤكل طازجة ويؤخذ فى الحسبان عند حساب هذا المعيار نقص أو زيادة المخلفات نتيجة لعمليات التجهيز والطهى والتجهيز التجارى وتصنيع المواد الغذائية . ويعبر عن المعيار بالملليجرام من المبيد لكل فرد .

٨ – التناول اليومى المقبول للمبيد Acceptable daily intake (ADI) :

هو كمية المبيد التى يتناولها الانسان يوميا مع الطعام خلال فترة حياته دون ان تحدث اية اضرار ، وتعتمد هذه المستويات على جميع الحقائق المتفق عليها خلال هذه الفترة ويعبر عنها بالملليجرام لكل كيلوجرام من وزن الجسم .

٩ – مستوى المخلفات التى لا تحدث تأثيرات معاكسة ملحوظة :
No observable Adverse effect level (NOAEL)

وهو يعنى اعلى جرعة تعامل بها حيوانات التجارب دون ان تحدث اية تأثيرات سامة ملحوظة ، ويعبر عنه بالملليجرام لكل كيلوجرام من وزن الجسم لكل يوم .

١٠ – الضرر أو الخطر Risk :

هو مفهوم احصائى يعبر عن التأثيرات المعاكسة التى تحدث من جراء التعرض لأى مادة كيميائية . وقد يعبر عنه ضرر مطلق بمعنى زيادة الخطر مع التعريض او الضرر النسبى بمعنى النسبة بين الاخطار فى الكائنات المعرضة والغير معرضة .

١١ – معدل استهلاك الغذاء Food consumption :

تعنى متوسط معدل استهلاك الغذاء اليومى لكل فرد من طعام معين أو مجموعة اطعمة فى مجتمع معين ، ويعبر عنه بعدد كيلوجرامات الطعام التى يتناولها الفرد الواحد كل يوم .

١٢ – العمليات الزراعية الجيدة Good agricultural practice (CAP) :

تعنى فى مجال استخدام المبيدات الأساليب الموصى بها من قبل الجهات الرسمية المسئولة لاستعمال المبيدات تحت الظروف العملية عند اى مرحلة من مراحل الانتاج والتخزين والنقل والتوزيع والتجهيز الخاص بالمواد الغذائية والزراعية واعلاف الحيوانات مع الأخذ فى الاعتبار الفروق

فى المتطلبات بين المناطق المختلفة . وهذا يتضمن التحديد الدقيق للكميات الصغرى اللازمة لتحقيق مكافحة مقبولة بحيث تستخدم باسلوب وطريقة تصل بالمخلفات للمستويات المقبولة من الناحيتين العملية والتوكسيكولوجية .

١٣ – لجنة الدستور الخاصة بمخلفات المبيدات

Codex committee on pesticide residues

وهى لجنة اساسية منبثقة من وكالة الاغذية ، وتضطلع بمسئولية وضع الحدود القصوى لمخلفات المبيدات فى الطعام والاعلاف كما تقوم بوضع قوائم اولويات تقييم المبيدات بواسطة اللجنة المشتركة الزراعية والصحية (FAO/WHO (JMPR ، وكذلك تحديد طرق اخذ العينات وتقدير مخلفات المبيدات فى الأغذية والأعلاف ، بالاضافة الى تحديد اية اعتبارات اخرى ذات علاقة بأمان مخلفات المبيدات فى هذه المواد الغذائية . وباب العضوية فى هذه اللجنة مفتوح لجميع اعضاء الدول اعضاء هيئة الزراعة والاغذية ومنظمة الصحة العالمية ، كما ان ممثلى الهيئات الدولية التى لها علاقة بالإنتاج والتصدير يمكنهم حضور الاجتماعات كمراقبين . ويوجد مقر هذه اللجنة فى ضيافة الحكومة الهولندية ، ولقد تم عقد ١٩ اجتماعا منذ عام ١٩٦٦ .

١٤ – وثيقة أو دليل الحدود القصوى لمخلفات المبيدات Codex MRL :

يعنى اقصى تركيز من مخلفات المبيد بعد استخدام هذا المبيد تبعا لنظام الزراعة الجيدة (GAP) ، ويحدد هذا المستوى بواسطة هيئة الغذاء وهو تركيز مقبول وجوده فى الأغذية والمواد الزراعية وعلائق الحيوانات ويعبر عنه بالملليجرام لكل كيلوجرام مادة غذائية .

١٥ – اللجنة المشتركة لمنظمتى الفاو والصحة العالمية لدراسة وضع المخلفات JMPR :

الخاصة بالمبيدات وهى تضم خبراء المخلفات فى الغذاء والبيئة من قبل الـ FAO ومجموعة خبراء مخلفات المبيدات فى الصحة العالمية WHO . ويعقد هذا الاجتماع المشترك سنويا حيث يقوم خبراء الفاو باستعراض انماط استخدام المبيدات وتقديم جميع البيانات الخاصة بكيمياء وتركيب مبيدات الآفات وطرق تحليل مخلفات المبيدات وكذلك تحديد الحدود القصوى للمخلفات بعد التطبيق السليم للمبيدات . أما خبراء الصحة العالمية يضطلعون بمسئولية استعراض البيانات الخاصة بالتوكسيكولوجى واية بيانات عن الحد اليومى المقبول تناوله (ADI) .

١٦ – دور لجنة الدستور الخاصة بمخلفات المبيدات Codex committee :

هى هيئة حكومية تقوم باسداء النصح لهيئة دستور الأغذية فى كل ما يتعلق بمخلفات المبيدات . ومن اولويات عملها وضع الحدود القصوى للمخلفات (MRL's) بما يحقق حماية صحة المستهلك على المستوى التجارى الدولى . وتؤخذ اعتبارات الصحة العامة فى الحسبان الا تزيد قيم الحدود القصوى للمخلفات عن تلك الناتجة من التطبيق تحت ظروف الزراعة الجيدة (GAP)

ومن وقت لآخر يبرز تساؤل فى لجنة الدستور CCPR عما اذا كان قبول الحدود القصوى للمخلفات سيخلق موقفا يؤدى الى زيادة حدود التناول اليومى للمخلفات (ADI) . ولا يمكن الاجابة على هذا التساؤل دون الاعتماد على دراسات التغذية ، وفى كثير من الحالات التى لا يدوم فيها استهلاك نوع الغذاء تحت الدراسة طويلا يصبح من الضرورى التنبؤ بمدى تناول مخلفات المبيد . وبناء على ذلك تم التوصية فى الجلسة الثامنة عشرة من عام ١٩٨٦ من قبل ال CCPR على القواعد العريضة التى وضعت لمساعدة السلطات القومية فى التنبؤ بمستوى التناول اليومى للمخلفات بعد قبول الحدود القصوى كما وضعتها لجنة الدستور . ولقد طلبت الـ CCPR من منظمتى الفاو والصحة العالمية بعقد لقاء خاص من خبرائهما لتجهيز مسودة هذه القواعد ووضع الاقتراحات الخاصة بالتقنيات الخاصة بتحديد درجة الأمان الخاصة بالحدود القصوى للمخلفات على المستوى القومى مقارنة بالمستوى الذى حددته اللجنة . وفى الجلسة التاسعة عشرة للـ CCPR عام ١٩٨٧ تمت التوصية بضرورة وضع القواعد باسرع ما يمكن مع الاهتداء بملاحظات وتعليمات ممثلى CCPR .

ثالثا : قائمة ومهام ومسئوليات العاملين بمعمل تحليل مخلفات المبيدات :

قصدت من تناول هذه الجزئية ان اضع النقط على الحروف بعدما تاهت المسئولية وتداخلت الاختصاصات واصبح كل من يعمل فى المعامل المركزية التابعة لوزارة الزراعة أو الصحة يدعى احقيته فى ان يكون مديرا لمعمل تحليل المخلفات متناسين ما هو معروف ومتفق عليه فى الدول المتقدمة والمعامل ذات السمعة الطيبة .

١ - مدير المعمل ... يجب ويفضل بل واتفق على ان يكون حاصلا على درجة علمية عالية فى الكيمياء « دكتوراه » وهذا ليس تفضلا او تعنتاً فى الاختيار لأن هذا المعمل يضطلع بمهام الكشف عن المبيدات وهى مواد كيميائية أولا واخيرا ، واضيف الى الدرجة العلمية ان تكون لديه خبرة ودراية بطبيعة هذا العمل الهام والخطير . لست هنا فى موضع الحديث عن ضرورة تحلى المدير بالامانة العلمية والاخلاق الحميده وعليه ان يتقى الله ويرعى مصلحة الوطن ، واقترح ان يكون هناك قسم خاص اسوة بما يحدث مع القضاة والاطباء ورجال الشرطة والقوات المسلحة لأن الأمانة التى يتحمل مسئوليتها لا تقل عن تلك التى يحملها هؤلاء . كما سبق التنويه ان التحليل فن وذوق ويمكن لأى مجتهد ذو خبرة واسعة ان يضطلع بهذه المهام حتى لو لم يكن كيميائيا ولكن الافضل ان يكون كذلك . وعلى المدير ان يتلقى تدريبات فى فن الادراة وكيفية التعامل مع الجهات التى يعنيها امر المخلفات محليا ودوليا وان يكون قادرا على فتح قنوات علمية وفنية مع الجامعات والهيئات المعنية بقضية المخلفات كما تكون لديه شجاعة كافية لمجابهة اية مواقف غير عادية ولا اريد نسيان اتقانه للغة اجنبية أو عدة لغات وعليه ان يختار معاونيه من بين الاكفاء والعناصر الصالحة دون اية أهواء شخصية . ويفضل ان يكون قد مارس عمليات التحليل بانواعها المختلفة وعلى دراية تامة بالاجهزة وذو كفاءة فى استقراء النتائج وكتابة التقارير ... الخ والتعامل مع

الحاسبات العلمية . واضيف الى ذلك ضرورة اشراكه فى جميع اللجان المعنية بالتسجيل والتوصيات والرقابة على المبيدات وغيرها من الكيميائيات الزراعية وغيرها .

من المؤسف الاشارة الى اننى عانيت كثيرا من التعامل مع احد مديرى معامل التحليل الخاصة بمختلف انواع الكيميائيات فى احد الجامعات بسبب جهله التام بالمهام الملقاه على عاتقه خاصة عدم معرفته بالاجهزة الموجودة فى معمله وعدم قدرته على استقراء النتائج وكتابة التقارير وكل ما كان يعنيه هو المحافظة على تواجده فى المعمل والحصول على المكافآت .. وعلى النقيض تماما كنت قريبا من احد المديرين الذى كان يستأثر بكل شئ لنفسه ويحجب المعرفة والخبرة عن كل ما يحيطون به .. فلا هذا يصلح ولا ذاك أيضا ...

٢ - مسئول عمليات الاستخلاص Extraction .. لمخلفات المبيد او مخلوط المبيدات من الوسط الموجودة فيه يجب ويفضل ان يكون حاصلا على بكالوريوس الكيمياء لأن الاستخلاص يعتبر العامل المحدد بل عنق الزجاجة فى نجاح عمليات التقدير ، يلى أو على نفس مستوى أهمية أخذ وتجهيز العينات ، فاذا كان الاساس خاطئا انهار البنيان وحدثت الكوارث من جراء خطر الكشف عن كمية ونوعية المخلفات . أؤكد أن الكيميائى هو اقدر الناس على التعامل مع المذيبات العضوية لمعرفته بخواصها وقطبيتها وكفاءتها فى الاستخلاص ويستطيع ان يختار المذيب الأكفأ واسلوب الاستخلاص الجيد ، كما انه ذو مقدرة لعمل تعديلات وتحويرات فى طريقة الاستخلاص كما أنه يقدر خطورة التعامل مع المذيبات ومدى الاضرار التى قد تحدثها للقائم بالعملية واسلوب حفظ المستخلصات وتجفيفها ووزنها والتعامل معها ... فقد هالنى مرة عندما فتحت الثلاجة الكبيرة فى احد المعامل ووجدت بها عشرات الزجاجات المحتوية على مستخلصات فى احد المذيبات العضوية مخزنة منذ شهور والباحث نفسه لأنه غير كيميائى لا يعرف امكانية الانهيار للمادة الفعالة فى وجود المذيب العضوى وهى ظاهرة تعرف بالـ Slovolysis . كم من طريقة تحليل جيدة فشلت بسبب الجهل باساسيات الاستخلاص . هل يتصور ان نجد باحث فى رسالة علمية على قناعة بمعدل استرجاع للمبيد من ٦٠ - ٧٠ ٪ مع الخبرات والتكنولوجيات الحديثة فى هذا المجال . واذا كان مسئول عمليات الاستخلاص غير كيميائى فلا يوجد امامه سوى إتباع خطوات الاستخلاص كما هى موجودة فى طريقة التحليل دون اجتهاد ... وهذا غير مستحب حيث المعرفة مطلوبة واساسية .

٣ - مسئول تنظيف العينات Clean up .. ويكون حاصلا على بكالوريوس كيمياء وطبيعة عمل ومسئوليات هذا الرجل على درجة فى غاية الأهمية بنفس القدر ان لم يكن اكثر من مسئول الاستخلاص وان كنت افضل شخصيا ان يكون هناك شخص واحد لعمليات الاستخلاص والتنقية . ان عدم الدقة والاهمال فى التنظيف يعتبر مسئولا بشكل كامل عن انخفاض معدلات الاسترجاع وقد يفقد المبيد تماما فى حالة تواجده بكميات ضئيلة خلال عمليات التنظيف . فى هذه الجزئية الاجتهاد العلمى المدروس مطلوب بسبب غلو ثمن المواد التى تستخدم فى تنظيف

العينات . فى الوقت الحالى توجد طرق متعددة لتنظيف المستخلصات وكلها تعتمد على الفصل الجزئى الطبيعى او الكيميائى للشوائب الموجودة مع المادة الفعالة للمبيد ... ان احتمالات حدوث تداخلات بين المبيد والشوائب ومواد التنظيف قائمة ، لا معنى لاستخدام مواد تؤكسد المبيد وتحوله الى صورة اخرى غير داخلة فى برنامج الكشف عن مخلفات المبيد مما يعطى بيانات مضللة عن وضع المخلفات . فى الوقت الراهن ظهرت طرق للكشف عن المبيدات لا تتطلب اجراء عمليات التنظيف وهذه تكنولوجيا جيدة يجب الإلمام بمفهومها واساسياتها وكيفية احداث التأثير قبل العمل بها حتى لا تكون سببا فى فشل عملية الكشف عن المخلفات . من المعروف ان هناك أوساط لا تتطلب عمليات تنظيف مثل الماء وان كنت افضل اجراء التنظيف فيها .. وسيرد فيما بعد وصف تفصيلى لمحددات هذه العمليات وسيتأكد القارئ بنفسه من اهمية أن يكون مسئول هذا العمل كيميائى على درجة عالية من الخبرة والمهارة .

٤ – مسئول معمل التقييم الحيوى Bioassay .. يجب ان يكون حاصلا على بكالوريوس حشرات من كليات الزراعة او العلوم واضيف الى ذلك مسئول من الطب البيطرى أو زراعة (انتاج حيوانى) للتقديرات الانزيمية . ان أهمية ودقة التقييم الحيوى فى الكشف عن مخلفات المبيدات ليست محل شك بل واجبة الاشادة بها بشرط فهم محدداتها والأسس التى تستند عليها . لابد ان تكون هناك مزارع للحشرات والحيوانات وغيرها فى هذا المعمل مرباة تحت ظروف قياسية بعيدا عن اى مصدر للتلوث حتى تكون استجابتها للمبيدات وغيرها من الكيميائيات تحت الاختبار ممثلة للواقع . ان عدم الدقة فى اختيار حيوانات الاختبار سيؤدى حتما الى فشل التقدير واتمنى أن يأتى اليوم الذى يكون فى مصر معامل لتربية الكائنات الحية المستخدمة فى الكشف عن المبيدات وغيرها من الملوثات البيئية تمد الباحثين فى جميع الجهات بنفس السلالات . مسئولى هذا المعمل لا بد ان تكون عندهم دراية كاملة بطرق معاملة الكائنات الحية للتجريب بالمبيدات ومن ثم يجب ان توفر فى هذه المعامل جميع امكانيات الاختبارات الحيوية . وعليهم ان يكونوا على المام تام بمحددات التقييم الحيوى وطرق استقراء النتائج وتمثيلها بيانيا وتحليلها احصائيا وايجاد معايير العلاقة بين التركيز والاستجابة . كم من اخطاء حدثت عند اجراء التقييم الحيوى وتقدير مخلفات المبيدات وكانت سببا فى فشل العمل . واذكر فى هذا المجال ما اجرى فى احدى كليات الزراعة من محاولات الكشف عن مخلفات المبيدات فى التربة حيث قام الباحث بعمليات استخلاص كثيرة ثم قام بتعريض المستخلص ليرقات دودة ورق القطن وهى فى هذا المجال غير مناسبة للاختبار وكان عليه ان يختار كائن حى اكثر حساسية وملائمة للاختبار الحيوى ... كم من مرة شاهدت حشرات مصابة بالفيروس تستخدم فى تجارب التقييم الحيوى لتحديد كفاءة المبيدات الحشرية على دودة ورق القطن . على مسئول معمل التقييم الحيوى ان يدرك بوعى وفهم كاملين اهمية السلالات الحساسة القياسية فى معمله حتى تكون مرجعا فى دراسات المقاومة على وجه الخصوص ان عدم توفر هذه السلالات فى معاملنا القت بظلال من الشك على النتائج والبحوث التى نشرت نتائجها عن تطور ظاهرة المقاومة للمبيدات فى مصر خاصة المبيدات الحديثة كالبيرثرويدات على سبيل المثال ...

٥ - مسئول العينات فى معمل تحليل المخلفات .. حيث رأيت من واقع عملى فى هذا المجال ان اضيف هذا المسئول لأهمية هذا العامل فى تحديد نجاح او فشل العملية كلها . وأتصور ان يكون هذا الرجل مسئولا عن تسلم العينات وتدوينها وتوثيقها فى الدفاتر الرسمية على النماذج الخاصة بذلك والإحتفاظ بها تحت الظروف المناسبة بعيدا عن اى مصادر تلوث او مسببات الانهيار كالحرارة أو الرطوبة العالية والضوء وغيرها . وعليه ان يكون على دراية بعوامل التحلل المائى ودور المذيبات العضوية فى هذا الخصوص وكذلك اسس تقسيم وتجزئة العينات وكيفية تجهيز العينة الممثلة . يجب ان يقوم هذا المسئول ومعاونوه من الفنيين باحضار العينات المطلوب الكشف عن مخلفات المبيدات فيها (حبوب - مواد غذائية ... الخ) بأنفسهم ونفس الشئ بالنسبة للعينات من شحنات ورسائل التصدير . على هذا المسئول ان يتقى الله فى عمله ويضع نصب عينيه خطورة المهام الموكلة اليه وعليه ان يقسم يمين الولاء للمهنة واخلاقياتها حيث ان العامل المحدد لنظام الرقابة على الواردات والصادرات من حيث مخلفات المبيدات ولو ادى عمله بأمانة لن نواجه مشكلة رفض اية رسائل تصديرية لأية سلعة بسبب احتوائها على مخلفات مبيدات اعلى من الحدود المسموح بتواجدها تبعا لمعايير كل دولة . كم شاهدت وسمعت ان بعض من هؤلاء المسئولين يتسلم عينات جهزت خصيصا للتحليل والكشف عن المخلفات اما عن جهل او عن عمد وهى جريمة بجميع المقاييس حيث يوفر على نفسه عناء ومجهود اخذ عينات ممثلة للواقع ويكتفى بما جهز له دون اكترات بخطورة هذا السلوك اللا اخلاقى .

٦ - مسئول معمل التحليل ... حتى لا يحدث خلط بين هذا المسئول وزميله مدير المعمل فاننى اتصور ان مسئول معمل التحليل هو القائم بعمليات التحليل فيما بعد الاستخلاص واخذ العينات وان كان من الضرورى ان يكون ملما بجميع خطوات ومتطلبات التحليل ويفضل ان يكون حاصلا على بكالوريوس الكيمياء واقترح ان توكل اليه عمليات تخليص العينات من الشوائب الموجودة بها وتنظيفها وتركيزها للحجوم المناسبة لعمليات التقدير النهائى ، وفى العديد من الحالات يكون عدم التنظيف الجيد سببا مباشرا ورئيسيا فى فشل عملية التحليل كلها . وفى تصورى ان هذا المسئول يجب ان يكون تلقى تدريبات وافية ومتخصصة بعد دراسته الجامعية فى كلية العلوم او الزراعة او الصيدلة أو الطب ... الخ . سواء فى داخل البلاد وفى المعامل المتطورة بالخارج كما يجب ان تتاح له الفرصة بصفة دورية منتظمة من خلال الدورات و الندوات لتحديد مفهوم وترسيخ اهمية التحليل فى وجدانه . لابد ان يتصف هذا المسئول بالحيوية والأمانة وحسن الخلق حيث لا بد ان يتعاون مع زملاؤه مسئولى العينات والاستخلاص كما يكون لديه القدرة على وضع واختيار الطريقة المناسبة للتحليل ومراقبة التنفيذ دون خلق المشاكل مع زملاؤه .. ولقد آلمنى ما شاهدته بنفسى فى احد مصانع تجهيز المبيدات فى مصر من خلافات بين مدير معمل التحليل ومسئولى المعمل العاملون تحت امرته مما يعيق حسن سير العمل والسبب الرئيسى لذلك يتمثل فى وقوف رئيس العمل فى جانب مسئولى التحليل ضاربا بمسئوليات ومهام مدير المعمل عرض الحائط . لذلك اوصى بضرورة تنحية كل الجوانب الشخصية جانبا حفاظا على تحقيق هدف التحليل . لمسئول التحليل مهمة استخدام اجهزة القياس الدقيقة وله ان يجتهد احيانا فى صيانتها اذاكان على

دراية وتلقى تدريبات من الشركات المنتجة لها اما الاصلاح العشوائى بدون معرفة من اخطر الأمور ، ومن الأفضل للجميع ان يتم الاتصال بالشركة المعنية بالصيانة والاصلاح . على هذا المسئول ان يجرى خطوات التحليل بنفسه حتى وان كان فى معمله مساعدون حتى لا يفقد حساسيته فى العمل وتتوارى الخبرة بمرور الوقت . واستطيع التأكيد بان تراكم وتجدد الخبرات والمعرفة لدى مسئول التحليل يجعله قادرا على التنبؤ المسبق بنتيجة التحليل بمجرد البدء فى الخطوات وقبل قياس العينات .

لا تقاس مهارة القائم بالتحليل بعدد الخطوات التى ينفذها فى التحليل ولكن بدقة كل مرحلة والحصول على نفس النتائج مع كل مرحلة فى حالة التكرار والتأكد reproducibility وفى العادة تحدد كفاءة معمل التحليل بصفة شاملة سواء على المستوى المحلى او الاقليمى او العالمى بخبرة ودراية العاملون فى هذا المعمل . على هذا المسئول الا يطلب أو يحاول الحصول على بيانات العينات محل التحليل أكثر مما هو متاح له من قبل مدير المعمل حتى لا يتكون عنده فكر معين او يتحيز لجانب معين فى التحليل خاصة فى عينات المراقبة واختبارات الجودة . وعلى هذا المسئول ان يكون قادرا على تجهيز وتحضير الجواهر الكشافة الخاصة بالتحليل واختبار انسب واسهل الطرق للتجهيز والتداول والحفظ .

٧ – مسئول معمل الاجهزة .. قديما كان ذلك يتضمن مسئول العمل على الاجهزة الاسبكتروفوتومترية بسبب توفرها فى ذلك الوقت ولم يكن معروفا وقتها اجهزة الكروماتوجرافى الغازى وغيرها . فى تصورى ان مسئول الاجهزة فى غاية الاهمية ويجب تواجده ليس فى كل معمل ولكن فى كل معهد وهذا اضعف الايمان . من المؤسف القول انه عند شراء اجهزة متقدمة بمعامل تحليل المبيدات فى بلادنا لا يوجد متخصص قادر على كتابة المواصفات الخاصة بهذه الاجهزة ومن الشائع ان نجد فى معاملنا العديد من هذه الأجهزة التى لا تعمل بسبب عدم أهميتها او لنقص بعض القطع الاساسية فيها . لذلك يجب ان ينشأ فى كل هيئة (جامعة – معهد علمى – مصنع ... الخ) مجموعة أو قسم يتولى مهمة توصيف الاجهزة وشراؤها وصيانتها واختيار الانواع التى تصلح لكل معمل . لا ينقص ذلك من وضع مديرى ومسئولى المعامل ولكنه يضيف اليهم خبرات جديدة ويجنبهم الوقوع فى المشاكل وهى خطيرة . ويحضرنى فى هذا المقام الأعطال الرهيبة التى تحدث فى اجهزة الكروماتوجرافى الغازى فى معظم المعامل نتيجة جهل بعض العاملين فى المعامل عن خطورة عدم الالتزام بطرق التحليل القياسية .. وعلى سبيل المثال قياس مبيد معين على الجهاز مع الكشاف الصائد للالكترونات وهو غير ملائم لهذا المبيد مما يؤدى الى تلف الكشاف Detector والذى يقدر ثمنه بعشر آلاف جنيه مصرى على الأقل . ومن الأمور التى تبدو تافهة ولكنها تحدث خسارة كبيرة فى الاجهزة عدم تزويد المعامل بمثبتات التيار الكهربى خاصة فى المناطق التى يتذبذب فيها التيار بين الارتفاع والانخفاض . ومن المؤسف ان كثير من العاملين فى معامل التحليل يفندون هذا الوضع باستخدامهم للمواد القياسية الداخلية Internal standards وهذا وان كان صحيحا لحد ما الا ان هذه المواد لا تتوفر مع جميع المبيدات .

٨ – المسئول عن تنظيف الادوات وحجرة العينات .. ان مسئولية هؤلاء العاملين خطيرة ولا تقل عن مسئوليات القائم بالاستخلاص والتحليل وتجهيز العينات . ان معامل التحليل تضطلع بمهمة الكشف عن آثار المبيدات فكيف يتصور استخدام زجاجيات غير نظيفة أو ملوثة بمواد قد تتداخل مع المبيد المطلوب الكشف عنه او قد يحدث له تحلل او انهيار أو تحوله الى صورة اخرى يؤدى الكشف عنها الى استنتاجات مضللة وأحكام خطيرة ومشاكل لا حصر لها . هناك طرق معينة لتنظيف الزجاجيات تستخدم فيها محاليل معينة والمشاهد والشائع استخدام المنظفات الصناعية وهى مواد قلوية التأثير مع العلم بان معظم المبيدات تنهار فى الوسط القلوى ، ولا ننادى بعدم استخدام هذه المواد ولكن نؤكد على ضرورة الشطف الجيد بالمياه المقطرة والاسيتون وبعد ذلك يتم التجفيف ، ويمكن زيادة فى الحيطة والتأكيد اجراء اختبار سريع للكشف عن اية شوائب . هل نتصور قيام مسئول التحليل باجراء الاستخلاص فى زجاجيات مبلولة بالماء واضافة مذيبات لا تمتزج بها مثل الكلوروفورم .. النتيجة ستكون نقص فى كفاءة الاستخلاص ومعدل الاسترجاع وكفاءة الطريقة بوجه عام . تنظيف حجرة العينات يجب ان يقوم بها عمال ملتزمون ينفذون التعليمات الموكلة اليهم ولا يجب ان يكون حرصهم الزائد فى تنظيف المكان سببا فى حدوث آثار جانبية على العاملين فى المعامل واحتمال تلوث العينات .

رابعا : قائمة بالأجهزة التى يجب توفرها فى معمل تحليل وتقدير مخلفات المبيدات :

سنركز فى هذا الجزء على الاجهزة التى تستخدم فى طرق التحليل للكشف عن المخلفات المتعددة multi residue وسنستكمل القائمة كلما امكن ذلك :

١ – الخلاطات فائقة السرعة والعادية والمقاومة للمذيبات .

٢ – اجهزة طرد مركزى ذات سرعات مختلفة تقاوم الانفجار .

٣ – انابيب وقوابل لأجهزة الطرد المركزى .

٤ – الهراسات – القطاعات ذات كفاءات متنوعة .

٥ – المخابير المدرجة ذات سعات مختلفة ١٠٠ – ٢٠٠ – ٥٠٠ ملليلتر وبعضها خاصة سعة ١٠٠ ملليلتر ذات أغطية محكمة .

٦ – انابيب خاصة لفصل المذيبات فى الاستخلاص بالفصل الجزئى (التفصيل موجود فى Pesticide analytical manual, vol I) .

٧ – دوارق معيارية ١٢٥ – ٣٠٠ – ٥٠٠ ملليلتر .

٨ – ورق ترشيح ١١ ، ١٥ سم .

٩ – دوارق للترشيح بالتفريغ ٥٠٠ ملليلتر .

١٠ – اقماع زجاجية ذات سعات مختلفة .

١١ – طواحين لتقطيع العينات لجسيمات ٢٠٠ ثقب .

١٢ – اجهزة الهرس موديل بوليترون .

١٣ – اغطية للدوارق المخروطية وغيرها من الزجاج .

١٤ – زجاجيات لون بنى بأغطية محكمة لتخزين الفلوروسيل .

١٥ – اعمدة زجاجية للكروماتوجرافى ٢٢ ملليمتر × ٣٠٠ ملليمتر باغطية أو بدون مزودة بقرص مسامى أو بدون .

١٦ – المكثفات ومنها مكثفات الهواء المصنوعة من الزجاج وكذلك مكثفات الماء .

١٧ – اجهزة الكروماتوجرافى بالجيل المنفذ وتتضمن وحدة اخذ العينات ومضخة والاعمدة وحقن سعة ١٠ ملليلتر .

١٨ – منظم لانسياب المذيبات ومحاقن وساعة ايقاف وصوف زجاجى ودوارق معيارية .

١٩ – اجهزة لتبخير المذيبات سواء ذات الغليان الواطية أو المرتفعة ويفضل اجهزة المبخرات الدوارة .

٢٠ – مقلبات مغناطيسية واعمدة تكثيف عاكسة .

٢١ – اجهزة الكروماتوجرافى الغازى بالكاشفات المختلفة مثل صائد الالكترونات والتناسب باللهب وغيرها .

٢٢ – اعمدة الكروماتوجرافى الغازى تبعا للأجهزة الموجودة فى المعمل ويفضل ان تكون من الزجاج .

٢٣ – اسطوانات الغازات عالية النقاوة من الايدروجين والنيتروجين والاكسجين والهيليوم والهواء ومخلوط الارجون / ميثان .

٢٤ – اجهزة لتداول المواد القياسية وزجاجيات لتخزين العينات وحفظ الجواهر الكشافة .

٢٥ – وحدات القياس اليدوية والالية والكهربية .

٢٦ – وحدة كاملة للكروماتوجرافى بالالواح الزجاجية Thin layer chromatography من المحقن والتنك والمجففات والمحقنات والالواح الزجاجية ومصادر الاشعة فوق البنفسجية .

٢٧ – وحدات الاستخلاص خاصة سوكسليت وغيرها .

٢٨ – حمامات ماء ذات مقاسات مختلفة .

٢٩ – اجهزة قياس الالوان colorimeter بمواصفات خاصة بقياس الالوان فى الحدود المرئية وغير المرئية .

٣٠ – اجهزة قياس الحموضة PH - meter

٣١ – اجهزة الاسبكتروفوتومترية .

٣٢ – اجهزة القياس المانومترى .

٣٣ – جهاز الكشف المناعى Immuno assay للمخلفات و الالكتروفوريسيز Electro-phoresis .

٣٤ – اجهزة التقليب الافقى والرأسى لاستخلاص العينات .

٣٥ – اجهزة خلط المواد الصلبة .

٣٦ – حوامل للأقماع والسحاحات وانابيب الاختبار .

٣٧ – حوامل للاطباق البترية .

٣٨ – وحدات للتعقيم (الاتوكلاف) .

٣٩ – جهاز فاربورج لقياس معدلات التنفس .... وغير ذلك

خامسا : قائمة بالجواهر الكشافة فى معمل تحليل مخلفات المبيدات :

١ – المذيبات العضوية والجواهر الكشافة الاخرى يجب ان تكون على درجة عالية من النقاوة وخاليه من اية شوائب تتداخل مع طرق الكشف عن مخلفات المبيدات . واذا كانت هناك ضرورة لاجراء عمليات تقطير للمذيبات يجب ان تجرى فى وحدات زجاجية .

٢ – الاصطلاح H2O بعنى الماء المقطر وهناك الماء متناهى النقاوة وهو يجهز بنظام تنقية معين .

٣ – يجب توفر الكلوروفورم ، كلوروفورم تراى اوكسيد ، قطن ماص ، داى كلورو داى ميثيل إيثان ، خلات الايثايل ايثير ، الفلوروسيل ٦٠ – ١٠٠ مش ، حامض خليك ثلجى ، صوف زجاجى ، هكسان ، حمض ايدروكلوريك ، ايزوبروبانول ، اكسيد مغنسيوم ، ميثانول ، احمر الميثايل ، ميثيلين كلوريد ، بنزوليم ايثير ، حمض فوسفو تنجستيك ، ايدروكسيد بوتاسيوم ، ايوديد بوتاسيوم ، رمل مغسول نقى ، حمض سليسيك ، بيكربونات صوديوم ، كلوريد صوديوم ، ايدروكسيد الصوديوم او البوتاسيوم على صورة كريات ، اكسالات الصوديوم او البوتاسيوم ، كبريتات صوديوم ، حمض كبريتيك ، تولوين ، ٢ و ٢ و ٤ تراى ميثيل بنتين (ايزو اوكتين) ، ٢ و ٢و ٤ – تراى ميثيل بنتين (ايزوأوكتان) عادى .

* بالنسبة للمواد الغذائية والأعلاف .. يجب اجراء اختبارات للتأكد من خلو المذيبات والجواهر الكشافة من المواد التى قد تتداخل مع التقدير الكروماتوجرافى الغازى وكذلك المواد التى تسبب انهيار المبيدات وكذلك التأكد من نقاوة الفلوروسيل ومعايرة عمود الفلوروسيل ..

يجب توفر ماصات سعة ٢٥ ملليلتر مدرجة – دوارق معيارية – دوارق ٥٠٠ ملليلتر – كحول الايثايل – هكسان حمض لوريك – دليل الفينولوفثالين – ايدروكسيد صوديوم .

يجب توفر المواد المالئة لأعمدة الكروماتوجرافى الغازى مثل :- Dc 200 - Ov 101 - Sp - Qf 1 - Sp 210 - Dc 710 - Sp 2250 - Ov 17 - DEGS - Ov 210 وهذه تمثل الوسط السائل ...

أما المــواد الصلبــة تشــمل Chromosorb WHP 80/100 mesh - Chromosorb WAW 80/100 mesh - Anakrom Q 90/100 mesh - Chromosorb 750 80/100 mesh - Gaschrom Q 80/100 mesh - Supercopoot 80/100 mesh.

بالنسبة للغازات يجب مراعاة ان بعض اجهزة الكروماتوجرافى الغازى تتطلب غازات على درجة عالية من النقاوة ويجب ان يتوفر فى معمل تقدير مخلفات المبيدات اسطوانات الارجون / ميثان ، الهيليوم – الايدروجين – الهواء – النتروجين – الاكسجين .

* بالنسبة للكروماتوجرافى على الالواح الزجاجية يجب ان يتوفر فى معمل التحليل مذيبات الاسيتون – وحامض الخليك العادى والثلجى والاسيتونتريل والكحول الايثيلى – اكسيد الالومنيوم – الالواح الزجاجية المغطاة باكسيد الالومنيوم – البنزين – الكلوروفورم – حامض الستريك – السيكلو هكسان – ن و ن – داى ميثيل فورماميد – خلات الايثيل – الايثيل ايثير – ن هبتان – ن – هكسان – بيروكسيد الايدروجين ٣٠ ٪ – ميثيل سيكلوهكسان – ميثيلين كلوريد – حامض نتريك – ٤ (بارانيتروبنزيل) بيريدين – بتروليم ايثير – ٢ فينوكس ايثانول – سليكا جيل – الواح زجاجية مغطاة بالسليكا جيل – سليكار – نترات فضة – مواد قياسية .

* المواد القياسية الواجب توافرها فى معمل تقدير مخلفات المبيدات .. نؤكد فى هذا المقام ان نجاح ودقة التحليل يتوقف على مدى نقاوة المواد القياسية ، وعلى البحاث او القائم بالكشف على المخلفات ان يتأكد من سلامة وأمانة مصدر العينات القياسية ونحن دائما ما نلفت نظر البحاث الى هذه النقطة الخطيرة وعليهم ان يتأكدوا من العينة باجراء اختبار سريع منعا لأية ملابسات او تشكيك فى نتائج التحليل ، وبنفس القدر من الاهمية تداول وتخزين المواد القياسية . ولضمان دقة العملية يجب ان يتوفر فى المعمل ميزان حساس فى مدى ± ٠,٠٥ مللجم وفريزر مناسب وزجاجيات لتخزين المواد القياسية وهى ذات اغطية من التيفلون ، ويمكن وضع العينات فى مجففات لحفظها وتوفير ماصات دقيقة وزجاجات عينات . لتجهيز المحاليل القياسية تفضل المذيبات بالترتيب التالى : ايزوأوكتان ، هكسان ، اسيتون ، ايزوبروبانول ، تولوين ، ان الاختيار الأمثل للمذيب المناسب لاذابة المادة القياسية فى غاية الاهمية حيث يجب اختيار المذيب ذو القدرة العالية على اذابته ولا يحدث له انهيار .

* المواد القياسية ذات النقاوة اعلى من ٩٩ ٪ توزن مباشرة تبعا للحجم المطلوب ، أما تلك التى تقل عن ٩٩٪ توزن وزنة معينة ويستخدم عامل التصحيح لحساب التركيز المناسب ، أما فى حالة المواد القليلة النقاوة أو الغير معروف نقاوتها تستخدم اذا لم يكن هناك بديل وتقاس النتائج بالمقارنة بأية نتائج اخرى موثوق بها .

* للحصول على المواد القياسية (مبيدات - كيميائيات صناعية) يتصل بوكالة حماية البيئة الامريكية . Pesticides and industrial chemicals.

Repsoltory (MD-8)
Envirnomental Research Center
U.S. Environmental Protection Agency
Research Triangle Park, NC 27711 USA

للحصول على المواد القياسية للكيميائيات الصناعية :

chemistry, contaminants Division of
HFF - 426. food and drug administration.
200 C street SW
Washington , DC 20204.

بعض الشركات تبيع الاجهزة والمواد القياسية كما ان بعض الشركات المنتجة للمبيدات ترحب احيانا بتزويد البحاث والمعامل بالمواد القياسية .

* تخزين العينات القياسية للمبيدات وغيرها من الكيميائيات فى غاية الاهمية فالتخزين المناسب مطلوب لتجنب حدوث اية تفاعلات مثل الاكسدة أو التحلل المائى او تكوين المشابهات . كما يجب الا يتسبب التخزين فى حدوث تلوث خارجى للعينات . ان ظروف التخزين تتوقف على الصفات الكيميائية والطبيعية للمركب ، ويراعى التخزين المناسب خاصة مع المركبات النشطة أو المتطايرة أو الغير ثابتة . والتخزين الطويل يجب ان توضع العينات فى زجاجيات محكمة الغلق فى مجففات فى الثلاجة فائقة التبريد اما المواد القياسية ذات الثبات العالى تخزن فى الثلاجة العادية اذا لزم الامر .

* تتوقف طرق تداول ووزن العينات القياسية على السمية ودرجة التعرض خلال التداول فالمواد عالية السمية أو عالية التطاير يجب ان تعامل بحذر مع الاحتياطات المناسبة ، وليكن معلوما ان استخدام المذيبات العضوية يزيد من خطورة المواد القياسية من خلال الامتصاص عن طريق الجلد . يجب ارتداء الملابس المضادة للمذيبات والقفازات الواقية ويجب العمل فى اماكن مكيفة .

* ان استخدام محاليل قياسية غير دقيقة يؤدى الى الحصول على بيانات غير دقيقة حتى لو استخدم القائم بالتحليل طرقا واجهزة دقيقة ومتقدمة ، والخطأ فى هذا المجال يعتبر من اوليات الأخطاء بل والوحيدة عند الكشف عن المخلفات البسيطة . * ان استخدام محاليل قياسية غير دقيقة يؤدى الى الحصول على بيانات غير دقيقة حتى لو استخدم القائم بالتحليل طرقا واجهزة دقيقة ومتقدمة ، والخطأ فى هذا المجال يعبتر من أوليات الاخطاء بل والوحيدة عن الكشف عن المخلفات البسيطة . الدقة فى المحاليل القياسية تتوقف على دقة الوزن واختيار المذيب المناسب والثبات

الكيميائى والظروف المناسبة للتخزين ودقة الملعومات عن تجهيز المحاليل القياسية ... وتستخدم هنا الاصطلاحات التالية :

* المحاليل القياسية الاصلية Standard stock solutions يعنى المحلول الاصلى الذى سيجهز منه المحاليل المخففة الاخرى للتحليل .

* المحاليل القياسية العاملة Standard working solutions تجهز من المحلول القياسى الأصلى ويستخدم نفس المذيب فى التخفيف .

* يجب على القائم بالتحليل ان يكون على دراية تامة وذو خبرة كافية فى اسلوب وطرق وزن العينات القياسية اخذا فى الاعتبار مواصفات المركب الطبيعية والكيميائية . ولقد صادفت العديد من الزملاء غير قادرين على وزن السوائل القياسية وبعضهم تعرض لاخطار من جراء استنشاق المواد الفعالة او امتصاصها خلال الجلد . وعلى القائم بالتحليل ان يعرف كيفية تجهيز المحاليل القياسية الاصلية والعمالة والاسلوب الامن لتداولها وتخزينها وتجديدها كل ٦ أشهر على اسوأ الظروف ، كما يجب ان يقوم بتسجيل جميع خطوات تحضير المحاليل القياسية فى النماذج الخاصة المتعارف عليها بين معامل التحليل المختلفة ، وعليه ان يتبع اصول الترقيم وكتابة البيانات على عينات المحاليل القياسية ، وكم من مرات عديدة ضاعت العلامات والبيانات من جراء التبريد او عدم الثبات وتسببت فى كوارث .

* **التحاليل المنتظمة Regulatory Analysis :**

* العينات التى يجرى عليها التحليل من خلال البرنامج المنتظم والدورى للكشف عن مخلفات المبيدات يجب ان تؤخذ طبقا للبروتوكول الخاص لهيئة الاغذية والأدوية الامريكية . يجب ان يكون الجزء الذى سيؤخذ للتحليل ممثلا للعينة الاصلية ويجب ان يتم تداوله بحرص شديد حتى نتجنب فقد المخلفات بالتطاير وحتى نتجنب كذلك تركيز المخلفات من جراء الفصل الطبيعى للمركب .

* وبالنسبة للمواد الزراعية الخام والتى تتضمن الفواكه الطازجة سواء مغسولة ام غير مغسولة والملونة والتى عوملت فى الحالة الطبيعية والخضروات الطازجة بجميع اشكالها والحبوب والبيض واللبن واللحوم وغيرها . وجميع هذه المواد يفضل ان تؤخذ عيناتها طازجة وعلى حالتها الطبيعية الا فى حالات الموز والجزر والجمبرى والبيض والسمك والفواكه والثمار الحجرية والثوم والمانجو والبطيخ والسودانى فيمكن ازالة السيقان والعروش والقشرة والنوى .. الخ . فى بعض الحالات يكشف عن مخلفات المبيد فى جزء معين من العينة وهذه هى التى تؤخذ للتحليل . بالنسبة للأطعمة المجهزة اى التى تعرضت لعمليات الطهى والتجهيز والتجفيف والطحن ، ولاجراء التحليل تؤخذ العينات المجهزة كما تشحن فى الحالة التجارية . وهناك بعض الاستثناءات كما فى الاسماك حيث يفضل ان تنزع الاشواك وازالة الرؤوس والقشور والذيل والزعانف والاحشاء .

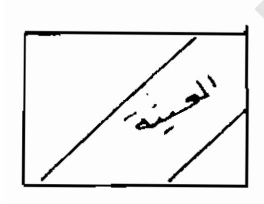
* محتويات العينات **Sample Compositing** :

* ضم العينات يجرى قبل اخذ الجزء الخاص بالتحليل حتى تضمن ان هذا الجرء (٢٥ – ١٠٠ جم) يكون ممثلا للعينة الكبيرة . وليكن معلوما ان الطحن والهرس والخلط الميكانيكى لا يعطى دائماً عينة متجانسة .. وسنحاول فى عجالة مختصرة الاشارة الى مكونات العينات وكيفية تجهيزها بصورة متجانسة .

* العينات المحتوية على مركبات الداى ثيوكربامات ونظرا للانهيار السريع لهذه المركبات فى وجود العجينة النباتية لذلك وجب اجراء التحليل فور اخذ العينات أو تخزينها تحت ظروف التجميد . وهناك استثناء من القواعد العامة فى حالة احتواء السلعة العصائر كما فى الطماطم والتفاح والبرتقال لأنها تتطلب تقطيع وهرس فى جهاز الهضم وفى بعض الحالات تؤخذ عينات كاملة وتجمد قبل التقطيع . فى حالة العينات ذات الوحدات الصغيرة مثل الحبوب والكريز والسودانى والبسلة والفول تؤخذ عينات فى حدود ٤ رطل وتجزأ لأربعة اجزاء ثم تؤخذ العينة الممثلة فى حدود واحد رطل للطحن . فى حالة العينات الكبيرة المتجانسة مثل الزبد والجبن لا داعى لتسييح السمن ولكن تؤخذ اجزاء من كل عبوة أو من كل بلوك كما فى الشكل التالى :







* بالنسبة لاجزاء العينات التى تحفظ من العينة الكلية تؤخذ ويختار ثلاثة اجزاء تعرف على النحو التالى : الأولى للتحليل الأساسى original analysis والثانية لاختبار صحة وكفاءة التحليل وتسمى check analysis والثالثة كاحتياطى reservc لاستخدامها فى حالات ظهور مشاكل ومعترضون على التحليل . تحفظ العينات الثلاثة فى زجاجيات محكمة تماما بحيث لا تتعرض للانهيار وهذا يتأتى بحفظها فى الثلاجات تحت التبريد العالى حتى تجاز نتيجة التحليل الخاصة بالجزء الاساسى ولا يقل العينة عن واحد رطل فى كل حالة . اما كيفية تجهيز العينات وطريقتها يمكن الرجوع الى المرجع :

Pesticide Analytical Manual Vol. I, foods and feeds.

[Extraction and clean up, section 142]

وعلى سبيل المثال يضرب البيض فى الخلاط على سرعة منخفضة لمدة ٥ دقائق ، وطحن المنتجات ذات الرطوبة المنخفضة فى طاحونة فائقة السرعة وطحن السمك الذى يجب ان يجمد قبل الطحن وهكذا لكل سلعة طريقة خاصة للتجهيز وقبل التحليل .

* تدوين نتائج التحليل Reproting Analytical Results :

* تدون نتائج المخلفات على اساس الجزء الفعلي من الغذاء الذى أخذ للتحليل ومثال ذلك السلع الزراعية الخام التى تؤخذ كل السلعة كما جهزت للتحليل واللبن ومنتجاته كمركب متكامل والمركزات والمجففات تؤخذ كل المنتج اما الخضراوات المجففة تؤخذ النتائج على اساس وزن المنتج الاصلى وقبل التجفيف والاغذية المحفوظة تؤخذ كما هى .

* يحسب مستوى المخلفات عند أو أعلى من حدود الطريقة المستخدمة فى التحليل ويعبر عن المستوى باجزاء فى المليون (ppm) وقد تحتاج لارقام تؤكد معنوية المخلفات عند المستويات المختلفة اذا كانت المخلفات اكبر من أو تساوى ١٠٠ جزء فى المليون يقرب الى اقرب جزء فى المليون ، اذا كانت فى حدود ١٠ - ٩٩,٩ جزء فى المليون تقرب مع اقرب ٠,١ جزء ، اذا كانت فى حدود ٠١. - ٩٩٩ ر جزء فى المليون تقرب الى اقرب ٠٠١ر جزء فى المليون .

* ويشار الى المخلفات على انها آثار (trace) اذا كانت موجودة فى مستوى اقل من حدود التقدير الكمى ويجب توصيف وتعريف المخلفات خاصة المستويات الغير متطايرة . فى حالة التقدير للمخلفات المتعددة multi residue تستخدم حدود منفصلة لكل مركب لأن لكل منها وضع خاص للتحليل فى الطريقة المستخدمة والعوامل التى تؤثر فى هذا السبيل هى طريقة التحليل المستخدمة ونوع الوسط الخاص بالعينة ووزن العينة المأخوذ للتقدير وحساسية خطورة التقدير وهذه تعتمد على ظروف الاجهزة المستخدمة مثل النوع والحساسية .

* توحيدا وتحقيقا لقياسية تقدير المخلفات بين المعامل المختلفةيجب الرجوع والاهتداء بدليل التحليل والا ستؤدى الاختلافات فى الكمية التى تحقق فى الجهاز وحساسية خطوة التقدير الى الحصول على كميات مختلفة من المخلفات بين المعامل المختلفة . الاهتداء بالدلائل ضرورى لوضع قيم الحدود المسموح بها . تحسب حدود طريقة التقدير كما يلى :

$$\text{جزء فى المليون} = \frac{\text{الكمية بالنانوجرام التى تسبب استجابة ١٠ ٪ من تدريج الجهاز}}{\text{كمية العينة بالمليجرام من العينة فى خطوة التحليل}}$$

وسأعطى مثال واحد لحساب حدود التقدير فى حالة مبيد الكلوربيريفوس (الدورسبان) عند استخدام الكروماتوجرافى الغازى المزود بصائد الالكترونات ECD من النيكل ٦٣ توصى بالحساسية ١,٥ نانوجرام بشرط ان يتم حقن المخلفات من ٣ مللجم دهن أو ٢٠ مللجرام عينة كلية . ومن ثم تكون حدود التقدير فى الدهن ٠,١ جزء فى المليون كلوربيريفوس ، اما لو كان الكشاف FPD تكون الحدود ٠,٠١٥ جزء فى المليون كعينة كلية . ومثال اخر مركب امتربوفيوران الذى اذا قدر بجهاز الكرماتوجرافى فائق القدرة HPLC وحساسية ١٠ نانوجرام يستلزم حقن ما هو موجود فى ٢٠٠ مللجم لتكون حدود التقديرات ٠١٠ر جزء فى المليون من المركب

* هناك العديد من العوامل التى تقلل من دقة التقدير الكمى للمخلفات وهى قد تعمل بصورة فردية او مجتمعة وهى قد تؤثر فى تعريف وتحديد موقف طريقة التحليل والحدود التى قد تستخدم لتعويض تأثير عامل منها قد تؤثر على دور عامل آخر . من هذه العوامل ما هو موجود عند خطوة التقدير ويقصد بها حساسية خطوة التقدير خاصة فى حالة تقدير المخلفات المتعددة لان حساسية كل مركب فى المخلوط قد تختلف عن الاخر . وهناك الحساسية المحددة للكشافات حيث انها ليست جميعا ذات مقدرة لتحقيق الحساسية المطلوبة . كما ان ظروف الجهاز تلعب دورا كبيرا فى هذا الخصوص فقد تعطى علاقة خطية لمبيد معين فى ظروف معينه بينما لا تعطى نفس الشئ تحت ظروف اخرى . من ثم وجب على المعامل ان تختارالظروف التى تمكن الكاشفات من تحقيق اعلى حساسية واخيرا لايمكن اغفال ماهية الشوائب والمواد التى تتداخل مع طريقة التقدير ومن ثم تؤثر على حساسية الكاشفات وهذا يؤكد على ضرورة اجراء مزيد من عمليات التنقية على العينة حتى نتلافى ذلك .

*** خطوات عامة فى التحليل وتقدير المخلفات :**

ترددت كثيرا قبل الكتابة فى هذا الموضوع ولكننى بعد ان استعرضت مكوناته تأكدت من خطورة اغفاله واهمية اتباعه . وفى هذا ما يفسر لكثير من القائمين بالتحليل اسباب عدم دقة النتائج ونقص معدل استرجاع المبيد recovery بالرغم من اتباعهم للخطوات المنصوص عليها واستخدامهم للأجهزة المتقدمة فكما سبق القول عن خطورة اخذ وتقسيم العينات واهمية الاستخلاص والتنقية . نشير مرة اخرى الى بعض المحددات :

*** التبخير Evaporation :**

لا بد لأى مشتغل فى تقدير المخلفات وحتى اختبار جودة المستحضرات ان يحصل على المراجع التالية للأهمية :

(1) Changes in official methods of analysis JAOAC51, 477-478

(2) Chiba , M. and Morley, H.V. JAOAC52, 55-62 (1968)

(3) Burbe, JA, Mille, P.A. and Bost wick D.C.AOAC, 49,999 - 1003 (1966)

(4) Mille, P.A., JAOAC42 734-740 (1959)

(5) Storhero, R.W. klein. h, and Rosembuog L.A. private Communication, food and drug Administration March16,1967.

وأبدأ الكلام بتحذير اى مشتغل فى مجال الكشف عن مخلفات المبيدات بعدم اجراء تبخير المستخلصات المنتقاه الخالية من المواد النباتية مهما كانت الظروف للوصول الى الجفاف حيث ان اكبر فقد للمخلفات يحدث عند التبخير للوصول الى حجم قليل او الجفاف ، ولقد وجد الباحثان Morleye and Chiba حدوث تبخير وفقد كبير لمخلفات بعض المبيدات حتى مع وجود بعض

المواد خلال الاستخلاص Co-extractives ، ولقد خلصا الى اهمية نوعية المواد المتواجدة فى المستخلص فى تحديد درجة الفقد بدرجة تفوق ما تحدثه الكميات . لا يمكن استبعاد الفقد باجراء التبخير البطئ فى ظروف المعمل او فى خزان الغازات ولقد اوصيا بان السبيل الوحيد هو التبخير للحجم القليل فى حدود ٠,٥ ملليلتر وليس الجفاف .

من الاجهزة المستخدمة فى التبخير السليم وحدات الغليان والمبخرات الدوارة بالتفريغ ، مركزات Kuderna - Danish – اعمدة المكثفات العاكسة الدقيقة – وحدات الاستقبال الحجمية .. لست فى مجال وصف طريقة التبخير المثلى للمستخلصات المحتوية على مخلفات المبيدات حيث ان الطريقة تعتمد على كمية المخلفات المتوقع تواجدها فاذا كانت الحجوم من ٣ – ٥ ملليلتر تختلف الطريقة عما اذا كانت اقل من ذلك . لا يجب على القائم بالتحليل ان يتناسى او يتجاهل خطورة التبخير او التركيز للمستخلصات ...

الفصــل الثانــى

* مقدمـــــة .
* اساسيات خاصة باجراء التجارب الحقلية .
* مسئوليات الكيميائى .
* مسئوليات المشتغل فى الحقل .
* العلاقة بين الكيميائى والمشتغل بالحقل .
* متطلبات ما قبل التحليل .
* طرق التحليل والقياس .



اهمية المعرفة باساسيات تحليل مخلفات المبيدات وتجنب مشاكلها

Priniciples of Residue Analysis

مقدمـــــة :

ظهرت فى الآونة الاخيرة ادعاءات من كثيرين يعملون فى المعامل عن وحدانيتهم فى الكشف عن المخلفات .. واكتفى بالقول لهؤلاء جميعا ان الخبرة ودوام العمل فى هذا المجال دون غرور هى السبيل لتحقيق كفاءة قادرة على العمل فى هذا المجال دون غرور فالقائم بالتحليل ليس هو مكتشف طريقة التحليل ومعظم خبراء هذا الفرع من المعرفة على مستوى العالم لم يدعوا يوما انهم الأوحد ولكن التواضع مطلوب واستطيع ان أؤكد انه ليست العبرة بحداثة الاجهزة والامكانيات فالذى لم يمارس طرق التحليل البدائية لا يستطيع ان يهضم ويقدر حلاوة الطرق الحديثة فمن لم يقم بوزن المواد الفعالة وتحضير التركيزات وعمل الاستخلاص والتنقية ومجابهة المشاكل المعقدة فيما قبل التحليل لا استطيع ان اضعه ضمن رجال الكشف عن المخلفات . هذا الفرع متجدد دائما وارجو لكل عامل فيه ان ياخذه ماخذ الهواية ، وبذلك يستطيع ان يحقق الكثير . لا اطلب من الزملاء فى هذا المجال غير الالتزام ببروتوكولات التحليل وكذلك الاجتهاد المحسوب بلا مكابرة او غرور . يجب ان يتغير مفهومنا عن مساعدى المعامل فهم عصب التحليل وعليهم مسئوليات كبيرة وخطيرة بداية من اخذ العينات وحتى فى اجراء التجارب المشرف عليها لتقدير مخلفات المبيدات ولا غضاضة فى ان مساعدى فى معمل تحليل المبيدات فى احد المعاهد العلميةفى اليابان والتابعة لشركة سوميتومو كيميكل كان فى مصاف تلاميذى ولقد تعلمت منهم الكثير واعطونى الثقة والعلم والمعرفة وعجنوا الهواية فى وجدانى وهى من اهم سمات القائم بالتحليل .

* اساسيات تحليل مخلفات المبيدات يجب ان تتناول الضروريات الاولية لكيفية اجراء التجربة الحقلية وما قبل التحليل . وبعد التقدير يتأتى عامل هام بل اهمها جميعا وهو الخاص باستقراء البيانات واستخلاص النتائج ووضع التوصيات . لذلك كان من الضرورى تناول اربعة نقاطا اساسية فى هذا الجزء على الترتيب : (١) التجربة الحقلية ، (٢) ما قبل التحليل ، (٣) طرق التحليل والقياس ، (٤) الاستقراء والتوصيات .

* مأخوذة عن الباحث Citt - van Middelen

Department of food technology and nutrition

University of Florida, Gainesville, Florida

*** اساسيات خاصة باجراء التجارب الحقلية :**

لا جدال فى ان تجارب تقدير مخلفات المبيدات ذات اهمية عالية ، لذلك وجب اجراؤها على عدد من المحاصيل الهامة . وهذا يتطلب اجراؤها باستخدام جرعات مناسبة ومستحضرات مناسبة وطرق تحقق الهدف للكشف عن المخلفات . بمجرد اقتناع الحشرى ومسئولى المكافحة بكفاءة وفعالية مبيد ما فى الحقل يكون القرار التالى هو ضرورة تقدير مخلفات ذلك المبيد وجمع البيانات

الخاصة بالمخلفات من جميع التجارب المحلية وفى الدول الاخرى . وهذه البيانات مطلوبة من قبل رجال الصناعة والشركة المنتجة للمبيد حيث انها من ضمن متطلبات التسجيل والحصول على ترخيص واحتكار المركب وقبل السماح بتداوله محليا او عالميا . كما ان بيانات المخلفات تفيد فى تحديد فترة دوام فعالية المركب تحت الظروف البيئية المختلفة . وتتناول الآن مسئوليات العاملون فى مجال المخلفات والتجارب الحقلية الخاصة بها :

* مسئوليات الكيميائى : على الكيميائى المنوط بمشكلة مخلفات المبيدات وقبل البدء باجراء وتنفيذ تجربة المخلفات اكتشاف وتبادل الآراء مع مسئولى الحشرات وامراض النبات والمحاصيل والتربة والبيئة الشاملة . على الكيميائى ان يأخذ فى اعتباره وقبل معاملة النبات او الحيوان بالمبيد العوامل التالى :

١) الخواص الطبيعية والكيميائية للمركب ، ٢) كمية انهيار وتكسير المركب فى الحقل او على حيوانات التجارب ، ٣) احتمالات الفعل والنشاط الجهازى للمركب وامكانية تكوين مركبات متحولة اكثر سمية للنبات أو الحيوان ، ٤) السمية على الثدييات ، ٥) الحد المسموح بتواجده من المركبات كما وضعته هيئة الاغذية والأدوية الامريكية على السلع مجال الدراسة ، ٦) مدى توفر وعملية طرق التحليل والكشف عن مخلفات المركب .

* مسئوليات المشتغل فى الحقل : ان الحشريون والمشتغلون بعلوم امراض النباتات وغيرهم من مسئولى المزرعة وبعد ان يتأكدوا من فعالية وسلوك المركب فى الحقل عليهم ان يتخذوا القرارات الخاصة بتجارب تقدير المخلفات فى الحقل من منظور : ١) الاهمية الاقتصادية للمبيد والمحصول محل الدراسة ، ٢) طريقة وعدد مرات استخدام المبيد ، ٣) تصميم التجربة ، ٤) طريقة اخذ العينات واسلوب تجزئتها ، ٥) تخزين العينة .

* العلاقة بين الكيميائى والمشتغل بالحقل : يجب ان يكون هناك تنسيق بين الكيميائى والمشتغل بالحقل فيما يتعلق بعدد العينات واسلوب جمعها وتقسيمها وهذا سيتوقف بالطبع على طبيعة المحصول والمبيد وحجم القطعة التجريبية . ويجب ان يمتد التنسيق عن كيفية أخذ العينات وتجزئتها والاستخلاص والتخزين . وهذه العلاقة فى غاية الاهمية لتحقيق دقة وسلامة التحليل .

* وهناك مشاكل وعقبات تؤثر على اداء القائم بالتحليل ودقة النتائج وتختلف الصعاب تبعا للمبيدات محل التناول ففى حالة المبيدات التقليدية يجب ان تركز جهود تقدير المخلفات على المحاصيل ذات الاسطح الكبيرة من حيث المساحة لكل وحدة وزنية طازجة .. قيل فى الماضى انه لا ينصح بضياع الوقت وبذل الجهد فى تقدير المخلفات على المحاصيل ذات الاسطح الناعمة مثل الطماطم والبطيخ والتفاح بالمقارنة بالحضروات الورقية .. وغيرها من النباتات ذات الأوراق العديدة والتى تستخدم كغذاء او اعلاف ، أود الاضافة الى ان هذا القول صحيح اذا اتبعت التوصيات الخاصة بالمكافحة وروعيت فترات الأمان ما بين المعاملة والحصاد والتسويق ، ولكن وللأسف الشديد أصبح الإستخدام المكثف والغير واعى مع استخدام مبيدات عالية السمية على هذه النباتات يحتم ضرورة تقدير المخلفات وتعضيدها بقوة القانون . وفى بعض الحالات خاصة المبيدات التقليدية

التى تذوب فى الدهون تتركز فى الانسجة الزيتية لبعض النباتات ذات الاسطح الناعمة وتسبب مشكلة تتعلق بالمخلفات .

المبيدات الجهازية تمثل خطورة كبيرة من حيث مخلفاتها فى النباتات المعاملة حيث أنها تنفذ وقد تكون بعيدة لحد ما عن عوامل الانهيار او تتحول الى مواد اكثر سمية داخل الانسجة النباتية يصعب التخلص منها بالغسيل او التجهيز . ونفس الشئ يحدث مع المبيدات الجهازية التى تضاف للتربة أو تعامل بها التقاوى وتجد طريقها صعودا الى الاجزاء الهوائية وتسبب خطورة كبيرة ، ومن المؤسف ان المزارعون خاصة فى الصوب البلاستيكية يستخدمون هذه النوعيات من المبيدات بسبب سميتها العالية وكفاءتها ولنا أن نتصور حقل عنب معامل بمبيد التيميك ثم تطرح اوراق العنب فى الاسواق بعد فترة قصيرة من المعاملة .. انها حقا جرعة وأى جرعة ..

لا بد من تحليل عدد من مكررات المعاملة الواحدة فى تجارب المخلفات .. ومن المثير للدهشة ان بعض مسئولى الكشف عن المخلفات لا يؤمنون بقضية المكررات تحت زعم ان الكيمياء لا تخطئ وهذا وهم كبير لأن مصادر الأخطاء كبيرة بداية من تصميم التجارب وأخذ العينات والاستخلاص والتنقية والحقن ... الخ . ان عدد المكررات يتحدد بمدى الدقة المطلوبة فى عملية واهمية التحليل وكذلك اقتصاديات العملية . ويفهم البعض خطأ ان المكررات تعنى اخذ أكثر من عينة للحقن فى الجهاز من نفس المستخلص . وما زلت اذكر احد تلامذتى فى المعمل المركزى للمبيدات عندما كان يعيد التجربة كاملة اذا تحصل على اختلاف فى احد المكررات الثلاثة وان كان هذا محمودا الا انه تزمت غير مطلوب يدل على عدم الإلمام الكافى بأساسيات التحليل . ولقد رأيت الكثيرين يكتفون بمكررين فقط واقول اما ثلاثة أو لا ...

* لن أملّ أو أشعر بتكرار نفسى عندما اتناول مشكلة العينات فى اكثر من مناسبة لخطورتها وكونها من اهم العوامل المحددة لسلامة ودقة التحليل والثقة فى النتائج والاعتماد عليها فى وضع التوصيات الخاصة بالمخلفات . وسوف نناقش هذا الموضع بالتفصيل فيما بعد ولكنى اود التذكرة بان عملية تقدير مخلفات المبيدات مكلفة وتحتاج لوقت وجهد كبيرين ومن ثم يكون اسلوب اخذ اقل عدد من العينات بما يمكن من تحقيق هدف التحليل بشكل جيد يمثل فلسفة بهذا العامل الهام . بالرغم من ان الكيميائى ومسئول التحليل يستخدم احدث الأساليب والطرق الا أن دقة التحاليل تتأثر وتتحدد فى المقام الأول بعدد العينات واخذ العينة الاصلية من الحقل . لو اخذت العينات الحقلية بطريقة عشوائية غير مدروسة لضاع وقت وامكانيات القائم بالتحليل هباء . ويدافع البعض عن هذا الخطأ بالقول ان وجود شئ احسن من لاشئ ... وهذا قول يثير العجب لأن ما بنى على خطأ يكون خطأ وقد تتسبب عنه كوارث اذا علمنا ان هناك مبيدات لا يسمح بوجود أية مخلفات منها فى الوسط تحت الدراسة خاصة المواد الغذائية والبان الأطفال وطعام المسنين . هناك متطلبات لضمان جودة العينة ومطابقتها للمواصفات الأول يتمثل فى صلاحية العينة بمعنى ان كل جزء منها يكون ممثلا لواقع التوزيع بحيث ان أى وحدة تستخلص وتجرى عليها الخطوات التالية تكون ممثلة للمجموع . وهذا يعرف بالعشوائية ويطلق عليها العينة العشوائية ... وكما سبق

القول « المدروسة » . والثانى خاص بالتمثيل Representativeness بمعنى ان العينة ليست عشوائية فقط ولكن اى جزء منها يطابق تماما العينة الكلية . بالطبع لا توجد عينة ممثلة للواقع ١٠٠ ٪ لذلك تكون العينة المقبولة تلك التى لا تختلف عن الأخرى الا فى الحدود الخاصة بالخطأ التجريبى . لا بد ان نسلم بوجود اختلافات من عينة لأخرى ومن منطقة لأخرى لذلك يجب ان يكون حجم العينة من النباتات الورقية اكبر من عينات الثمار لأن الاختلافات بين العينات الأولى كبيرة كذلك فالثمار كالبرتقال والتفاح ذات سطوح غير متجانسة لحد كبير من حيث المساحة . لنا ان نتصور أخذ عينات من حقول الملوخية أو السبانخ وغيرها بالمقارنة بالتفاح .

قد تؤخذ العينات بأسلوب سليم ولكنها تتداول اثناء النقل والتخزين بأسلوب خاطئ ثم نتكلم عن دقة النتائج ونترحم على غياب توصيات دقيقة للمخلفات .

متطلبات ما قبل التحليل Pre-analysis requirements :

* بعد أن تؤخذ العينة الصالحة والممثلة للمجموع وتجزأ وتنقل للمعمل وتخزن او لا تخزن تتمثل الخطوة التالية للقائم بالتحليل فى كيفية الفصل الكمى للمبيد تحت الدراسة من الوسط الموجود فيه ونفس الشئ يقال عن ممثلات هذا المبيد ، فكثيرا ما يركز الباحث على الكشف عن المركب الاصلى وينسى أو يتناسى نواتج تحوله والتى قد تكون اكبر سمية . أول خطوة تعنى الاستخلاص Extraction يجب ان تجرى بأسلوب وطريقة مناسبين بما يعكس الوضع الحقيقى للمخلفات فى العينة . لقد اشار Bann عام ١٩٥٧ وهذا كلام قديم ولكنه ما زال صالحا وفى غاية الاهمية الى انه توجد ثلاثة طرق للاستخلاص الخاص بمخلفات المبيدات : الأول يتمثل فى غسيل السطح الكلى للنبات بالمذيب العضوى والمناسب والثانى يتمثل فى هرس السطح النباتى مع كبريتات الصوديوم اللامائية ثم تستخلص بالمذيب المناسب (كبريتات الصوديوم اللامائية لازالة الماء) والثالث يتمثل فى هرس السطح النباتى مع المذيب العضوى أو أكثر من مذيب . لا بد ان يختار المذيب العضوى بحيث تكون قابلية المبيد للذوبان فيه عالية وتجرى عملية الاستخلاص لفترة محددة تضمن عندها حدوث توازن بين المكونات الموجودة فى الوسط .

* ان عدم التوفيق أو الاجتهاد فى إختيار مذيب عضوى يختلف عما هو مطلوب ومتفق عليه يؤدى الى نقص فى كفاءة عملية الاستخلاص ، لذلك وجب على كل باحث ان يجرى دراسة أولية لتحديد معدل استرجاع المبيد من جراء جميع العمليات المتتابعة بداية بالاستخلاص وغيره من المعلومات الأولية التى يجب ان يلم بها القائم بالتحليل ما هو خاص بالقطبية والذوبانية والتوزيع الجزئى للمركب مجال الدراسة والمذيبات المتوفرة فى المعمل .

* الطريقة الأولى الخاصة باستخلاص كل السطح النباتى المعامل تتسم بالسهولة والسرعة ومن عيوبه عدم تحقيق الاستخلاص الممثل للمجموع وكذلك عدم استخلاص المبيد الذى يتخلل داخل السطح النباتى ولكنها تصلح لاستخلاص العينات النباتية ذات السطوح الملساء كالفواكه .

* الطريقة الثانية والثالثة الخاصة بطحن العينة فى وجود او عدم وجود كبريتات الصوديوم اللامائية سواء بمذيب واحد أو مخلوط من المذيبات العضوية تتوقف، كفاءتها على كمية الجزء النباتى فى المستخلصات فلو حدث الهرس لكل وحدات النسيج النباتى او الحيوانى كانت النتيجة أفضل كثيرا من الهرس الغير كامل . ويلجأ البعض للنقع مع المذيب لفترات طويلة وهذا جائز ولكن الفيصل يكمن فى نسبة الاسترجاع Rate of Recovery .

* عندما عادت بى الذاكرة الى أواخر الستينيات عندما كنت اعمل فى درجة دكتوراه كيمياء المبيدات وكنت اقوم باستخلاص عدد من المبيدات الفوسفورية والكارباماتية من المحاليل المائية للتربة وكنت استخدم مجموعة كبيرة من المذيبات العضوية وكانت المياه المترشحة من التربة مضافا اليها المواد العضوية مثل الخميرة والنشا والسماد البلدى .. الخ . ولقد صادفت مشكلة تكوين مستحلبات ثابتة Emulsion Formation فى بعض الحالات مما ادى الى انخفاض كبير فى معدلات الاسترجاع . ولقد قرأت وإستشرت زملائى فى قسم الكيمياء وتوصلت الى طرق لكسر المستحلب ورفع كفاءة الاستخلاص . لذلك اقول أنه من اصعب الامور التى قد تواجه القائم بالكشف او تحليل مخلفات المبيدات تكوين مستحلبات ثابتة عند الاستخلاص بالمذيبات العضوية للمبيدات من العينات النباتية أو الحيوانية بسبب الارتباط مع الماء الذى يتحرر من الانسجة عند الخلط . وتظهر هذه المشكلة بوضوح عند استخلاص العينات المجمدة أو المحفوظة من الاغذية . ومن الطرق التى نجحت فى التخلص من هذه المستحلبات هو اضافة كبريتات الصوديوم اللامائية لازالة الماء الحر أو استخدام مذيب مساعد Co-solvent مثل الايزوبروبانول الذى له المقدرة على اذابة المذيب المستخدم فى الاستخلاص وماء العينـــة النباتية أو الحيوانية ومن ثم منع تكوين المستحلب

* استخدام المذيب المساعد يفيد كثيرا مع عينات الخضراوات الورقية الطازجة والمجمدة التى تحتوى على مياه كثيرة . ولا ينصح بهذه الطريقة دوما مع الاوراق النباتية والفواكه الجافة والمحاصيل الزيتية والقشريات والسودانى والحبوب الجافة وقشرة الموالح وغيرها . ان استخلاص المبيدات من التربة تحتاج لطريقة معينة تفاديا للتأثير على كفاءة الادمصاص بسبب اختلاف مستويات الرطوبة . لذلك فان استخدام الاسيتون ذو القطبية العالية يفيد كثيرا فى هذه العملية مع تحقيق معدلات استرجاع جيدة ولكن يحدث استخلاص لبعض المواد المتداخلة . لذلك فان استخلاص المبيدات من التربة بمخلوط ١٠ ٪ اسيتون فى الهكسان يوصى به ولا يؤدى الى تواجد المواد المتداخلة .

* بالنسبة للاستخلاص من العينات الحيوانية واللبن تلعب الصفات الكيميائية للمركب دورا كبيرا فى تحديد كفاءة العملية . يمكن استخلاص المركبات الثابتة فى الوسط القلوى مباشرة بالتصبن والفصل بمذيبات ايدروكربونية . اما الغير ثابتة تستخلص مباشرة بالمذيب المناسب وتفصل من المواد المتداخلة بالتحلل الحامضى او باستخدام اعمدة الكروماتوجرافى المناسبة . فى الغالب تطحن الانسجة الحيوانية مع كبريتات الصوديوم اللامائية قبل الاستخلاص .

* ازالة المركبات التى تذوب فى الماء من الانسجة النباتية تصادف اخطاء اذا استخدم الماء فى الاستخلاص كما ان الماء الموجود فى العينات تحدث تخفيف للعينات . لذلك يفضل استخلاص هذه المركبات بالكلوروفورم .

* بعد الاستخلاص يجب ان تخزن العينات المحتوية على المخلفات فى ظروف مناسبة بما لا يسمح أو يحدث خلالها تغير بسيط أو فقد قليل فى المخلفات حتى ما قبل التحليل النهائى اذا كان هناك امر قضائى او مشكلة خاصة بالتسويق او حدثت ظروف قاهرة تحول دون اجراء التحليل فى الوقت المناسب قد تخزن العينات لمدد طويلة تمتد من ستة شهور وحتى عام كامل . المبيدات الفوسفورية اكثر حساسية للانهيار والتطاير خلال التخزين بالمقارنة بالمبيدات الكلورينية التى يمكن ان تخزن مستخلصاتها لمدد طويلة جدا دون خوف على درجة حرارة ٤٠ فهرنهيت فى زجاجيات محكمة القفل . اما مستخلصات المبيدات الفوسفورية يجب ان تحفظ تحت التبريد فى أوانى غاية فى الاحكام . وهناك بعض الدراسات التى اكدت حدوث انهيار بسيط للمبيدات الفوسفورية العضوية عندما خزنت على درجة صفر فهرنهيت . كما اشار walker عام ١٩٦٠ الى ان مستخلصات مذيبات الكلوروفورم وايثير البترول تتبخر على درجة ٣ م اثناء التخزين ، واكرر مرة اخرى ان الفيصل فى هذا السبيل هو معدلات الاسترجاع حيث يمكن التأكد من سلامة التخزين بوضع عينة مقواة اى تحتوى على كمية معلومة من المبيد تحت نفس الظروف وتقدير معدل الاسترجاع وبذلك يمكن الحكم علي دور التخزين وما اذا كان مناسبا أم لا بشرط التحكم فى جميع الظروف السابقة . واحذر مرة أخرى من تخزين المستخلصات ولكن يمكن تبخير المذيب كما سبق القول وتخزين فيلم المخلفات فى ظروف التجمد العالية منعا للانهيار . ان وجود بعض المذيبات يسبب تحلل مائى بالمذيب solvolysis .. وسوف نتناول هذا الموضع بالتفصيل فيما بعد لأهميته .

* بالرغم من اننى سأتناول موضوع تنظيف العينات بالتفصيل فيما بعد الا إننى اود الاشارة فى عجالة بسيطة الى اهمية هذا العامل الذى يسبق التحليل النهائى ويدخل فى مصاف التجهيز يجب اخراج المستخلصات المحفوظة من الثلاجات عالية التبريد قبل يوم واحد من إجراء التحليل وتوضع على درجة حرارة ٤٠ ف حتى تسيح وبعد ذلك تجرى عليها عمليات التخلص من الشوائب أو التنقية Purification وأنا لا أفضل هذا الاصطلاح هنا وافضل عليه التنظيف clean-up أى عزل المبيد من الانسجة (على أو فى) الحيوانية أو النباتية باستخدام المذيب المناسب ويجب أن يكون الفصل كميا من المواد المتداخلة . لا يمكن ان نغفل العلماء الذين وضعوا الأساسيات فى هذا المجال امثال Gunther and Blinn (١٩٥٥) و Schechter and Hornstein (١٩٧٥) . فى العادة تختلف طريقة التنظيف تبعا لطريقة التحليل التى ستتبع فى تقدير المخلفات . معظم طرق التنظيف لا تتعدى واحد أو أكثر من الطرق التى وصفها الباحث Bann (١٩٥٧) حتى ظهرت الطرق الحديثة الى ان شاهدنا امكانيات عالية للكشف عن المخلفات دون تنظيف ... والطرق الاربعة تتمثل فى : ١) الفصل الكروماتوجرافى وتصلح فى حالة المواد ذات الادمصاص اللا متخصص على مواد معينة أو قليلة الادمصاص ولكل اسلوبه ، ٢) الازالة أو الفصل الكيميائية للمواد المتداخلة من خلال الاكسدة او الاختزال او التصبن او التحلل المائى بشرط ألا تؤثر على المبيد المراد فصله بأى شكل من الاشكال ، ٣) الفصل الطبيعى من خلال الفصل الجزئى بالمذيبات أو التقطير البخارى أو التجميد .

* الفصل الكروماتوجرافى Chromatographic separation يشمل ثلاثة انواع الأول من خلال الاعمدة التى تعبأ بمادة ادمصاص ذات قطبية معينة تكون قادرة اما على مسك المبيد والسماح للشوائب بالنزول مع مذيب الازاحة أو مسك الشوائب والسماح للمبيد بالازاحة . ان اختيار المادة المناسبة للادمصاص يتوقف لحد كبير على قطبية المركب نفسه فالمركبات ذات القطبية المنخفضة يمكن فصلها من المواد المتداخلة عالية القطبية باستخدام مجموعة كبيرة من مواد الادمصاص . أما المواد ذات القطبية المتساوية أو اعلى من الشوائب يمكن فصلها باستخدام مادة ادمصاص ذات قابلية كبيرة لادمصاص المبيد دون غيره حيث تزاح الشوائب بالمذيب تاركة المبيد بنفسه الذى يزاح بعد ذلك باستخدام مذيب اكثر قطبية . لقد طورت العديد من الاعمدة الكروماتوجرافية مثل عمود Davidow ذو الكفاءة العالية فى فصل المبيدات الثابتة فى الوسط الحامضى من المواد المتداخلة الجلسريدية كما ان استخدام الراتنجات ذات المقدرة التبادلية للايونات اصبح شائعا منذ عام ١٩٥٦ (Gueto وآخرون) وحتى الآن ...

ثبت كفاءة فصل المبيد من الشوائب او من نواتج تمثيله او فصل مخلوط المبيدات باستخدام الكروماتوجرافى الورقى واصبح وسيلة لا غنى عنها فى اى معمل تحليل لسهولتها وحساسيتها ، ونفس الشئ على الكروماتوجرافى او الألواح الزجاجية . وهذا الاسلوب يحتاج لمهارة وخبرة واذكر ما عانيته من فصل المبيدات الكلورينية فى الستينيات عندما كنت استخدم نترات الفضة واغمس الورق فى زيت السليكون وقد صادفتنى عقبات ازرقاق الورق وليونته اكثر من اللازم وتمزقه ... الخ . من العقبات التى اخذت وقتا وجهدا للتغلب عليها .. والآن نسعد جميعا بالكفاءة العالية واجهزة الكروماتوجرافى الغازى والسائل وذو المقدرة الفائقة فى فصل المبيدات من المواد المتداخلة والشوائب وهذا ما يحتاج لخبرة كبيرة .

** اذا لم يكن التنظيف بالطرق الكروماتوجرافية مرضيا وقياسيا يكون هناك احتمال ان تتغير المواد المتداخلة من جراء تفاعلها مع الاحماض او القواعد او المواد المؤكسدة الموجودة فى الوسط مما يؤدى لتكوين مركبات ذات ذوبانية مختلفة عما هو الحال فى المبيد المطلوب تحليله لذلك يكون اللجوء للطرق الكيميائية chemical separation للتخلص من الشوائب ضروريا ... ومن هذه الطرق البسيطة والسهلة والتى تحتاج لخبرة .

(١) الاكسدة .. حيث يمكن فى بعض الحالات اجراء اكسدة للمستخلصات او اكسدة للعينات المحتوية على المبيدات ثم اجراء الاستخلاص المناسب لانتاج مركبات عديمة اللون خاملة أى غير قادرة على الدخول فى تفاعلات ومن ثم لا تتداخل مع الجواهر الكشافة الخاصة بالتقدير للمبيد او يمكن فصلها بسهولة عن المبيد دون اية اضرار او مشاكل . وفى هذه الحالة يجب ان يكون المبيد المستهدف مقاوما للأكسدة ، وقد تستخدم الاكسدة لتكسير او تغيير التركيب الكيميائى للمبيد مما يؤدى لانتاج مشتق او اكثر يمكن فصله من العينة النباتية أو الحيوانية المستخلصة . اكسدة بعض المواد الفوسفورية العضوية قد يكون ضروريا لتقديرها بطريقة تثبيط انزيم الاسيتايل كولين استيريز حيث ان بعضا من هذه المبيدات تكون ضعيفة التأثير على هذا الانزيم

لذلك فان الاكسدة باستخدام حمض فوق الخليك أو غيرها من المواد المؤكسدة تحولها الى الصورة الفعالة للتقدير بالانزيم .

(٢) اذا كان المركب المطلوب تقديره ثابت فى الوسط القلوى يمكن اجراء تصبن للمركب باستخدام الصودا الكاوية الكحولية . وهى من احسن الطرق لتنظيف المبيدات من المركبات الدهنية الجلسريدية الموجودة فى العينات . عندما يكون المركب مقاوم للأكسدة يمكن التخلص من العديد من المواد المتداخلة الغير مشبعة من خلال الاكسدة ثم جعلها اقل ذوبانية فى مختلف المذيبات العضوية .

(٣) لقد شاع استخدام اسلوب التحلل المائى فى الاعمدة كوسيلة للتنظيف من الشوائب حيث استخدم فى البداية مخلوط ١ : ١ من حامض الكبريتيك المركز والمدخن ٢٠ ٪ لتنظيف العينات النباتية والحيوانية قبل اجراء التقدير الحيوى لمركبات الـ د د ت وسادس كلورور البنزين . كما استخدم محلول ١٠ ٪ من حامض الايدروكلوريك فى تقدير الباراثيون .

(٤) يمكن استخدام اسلوب الاختزال لتحويل المبيد الى صورة او مشتق آخر مما يسهل فصله من الشوائب كما هو الحال مع مبيد الباراثيون حيث يستخدم الزنك وحامض يد كل لاختزال مجموعة النيترو الى الا مينو مع تكوين ملح الديازونيوم قبل الارتباط .

* كما سبق القول يضم الفصل الطبيعى للمركب أو الشوائب Physical separation ثلاثة طرق : (١) الاولى تعرف بالفصل الجزئى بالمذيبات العضوية Solvent partition وهى تستخدم عندما يكون المركب اكثر ذوبانية فى مذيب معين بينما المواد المتداخلة تذوب فى مذيب آخر ومن ثم يفضل الا يكون هناك توافق خلطى بين المذيبين بينما يذوب المركب فيهما ولكن بأفضلية كبيرة تجاه احدهما بالمقارنة بالآخر . ولقد استخدمت هذه الطريقة كثيرا لفصل المبيدات من الدهون والشموع الموجودة فى العينات . ومن الضرورى التخلص من الصبغات والاتربة قبل اجراء عملية الفصل الجزئى . واذا لم يكن القائم بالعملية مدربا يحدث فقد كبير فى المبيد ومن ثم تقل معدلات الاسترجاع . (٢) والثانية هى طريقة التقطير البخارى Steam distillation وتستخدم فى حالة المبيدات المتطايرة ، (٣) والثالثة تمثل طريقة التجميد او التبلور Freezing or crystallization تفيد فى حالة احتواء المستخلصات على دهون او شموع بكميات كبيرة حيث يمكن ترسيبها بعد تركيز المستخلص فى حمام ثلج جاف مع الاسيتون . ولقد ساعد هذا التكنيك فى التخلص من الدهون والشموع فى المستخلصات النباتية اثناء دراستى للدكتوراة مع المبيدات الفوسفورية العضوية عندما كنت اقوم بالكشف عنها وتقديرها كميا بطريقة لونية Getz لأن وجود اية مواد دهنية كان يؤدى الى حرق العينات فى حمام الزيت على درجة ١٧٠ ° م . ولقد استخدمت هذه الطريقة عند فصل الـ د د ت من مستخلصات ثمار الافوكادو ، ومن المؤسف ان الباحثين اليوم يتجاهلون هذه الطرق البسيطة والسهلة والطبيعية والسريعة .

* يمكن استخدام الطرق البيولوجية فى تكسير الشوائب ومن ثم يسهل فصلها عن المبيد وهناك العديد من الكائنات الدقيقة والانزيمات التى تقوم بهذا العمل . ان تعريض العينات المحتوية

على دهن فى حدود ٥ جرام يمكن التخلص منها باضافة عصير البنكرياس ، وليكن معلوما ان أى اضافة للمستخلص يجب الا تؤثر على تركيب وصفات المبيد .

*** طرق التحليل والقياس Analytical measurement :**

أود التذكرة الى ان القائم بتحليل المبيدات يجب ان يتعلم اولا ويتدرب على الطرق الاولية او ما تسمى اليوم البدائية . ويلم جيدا باساسيات التقدير حتى يستطيع حل اى مشكلة تجابهه والتفكير المنظم الواعى وكم شاهدت العديد من الباحثين لا يستطيعون التفكير عند اول مشكلة تواجههم بسبب نقص الخبرة وعدم الالمام بالمعلومات الاساسية عن التحليل . ولا انكر انه حدث تقدم رهيب فى طرق التحليل ولكن تظل الاساسيات اساسية .. ويمكن سرد الطرق الخاصة بالتحليل باختصار شديد فيما يلى :

* من اكثر الطرق شيوعا فى تقدير المخلفات الطرق اللونية أو الفوتومترية وأساس طريقة الاسبكتروفوتومترية يتمثل فى الاستفادة من خاصية الامتصاص الاختيارى للطاقة المنبعثة من المركب الكيميائى . الطرق اللونيية تشمل ثلاثة معايير هى التقدير بالاشعة فوق البنفسجية والضوء المرئى والاشعة تحت الحمراء وجميعها تتميز بالكفاءة والحساسية . وهناك ايضا طرق النيفلومترية والفلوريمترية ولكل خصائصه ومقدرته .. وعلى الباحث ان يختار ويجرب والفيصل عنده هو الحساسية والكشف عن المخلفات الدقيقة .

طريقة الاشعة الفوق بنفسجية (UV) تستخدم لقياس المركبات الصلبة أو نواتج تمثيلها والتى تمتص الطاقة الفوق بنفسجية وتحدث حزم امتصاص عالية ويتطلب هذا الاسلوب اجراء عمليات تنظيف جيدة كاملة بالمقارنة بالطرق الاخرى وهى طريقة سريعة وحساسة ومتخصصة .

أما طريقة القياس فى الضوء المرئى هى الاكثر شيوعا وتعتمد على اضافة مجموعة ملونة الى المركب او الحصول عليها من المركب نفسه بتفاعلات معينة للحصول على لون يتدرج فى الكثافة تبعا للتركيز . من احسن الطرق اللونية تلك الخاصة بالاشعة تحت الحمراء فى مجال تعريف المركبات لأن لكل مركب امتصاص معين ومحدد للطيف . ولقد استخدم البعض الكروماتوجرافى الغازى لتنظيف العينات ثم اجرى القياس الكمى بالاشعة تحت الحمراء . اما طريقة النيفلومترى والفلوريمترى يعنيان استغلال خاصية انبعاث الفلورسينس من المركبات التى يجب ان تحتوى على مجموعات جزيئية مناسبة حساسة للتحول الى حالة الكترونية هائجة أو نشطة تقاس بالفلورسينس . ولقد استخدم احد الزملاء « أ . د. فتحى عفيفى الاستاذ بقسم الوقاية » هذه الطريقة اثناء دراسته للماجستير عن توزيع قطرات الرش على الاوراق النباتية حيث اضاف مادة فلورسينية لمحلول الرش ثم اجرى تصوير فوتوغرافى وقام بقياس قطرات الرش (حجم – عدد ...) ومن يومها لم اسمع أو اشاهد زميلا اجرى هذا الاسلوب بالرغم من اهميتها وحساسيتها .

* طرق القياس الالكترونية Electrometric وهى تستخدم لقياس المركبات الايونية او

الايونات الناتجة من تحول المركبات مثل الكورين او البرومين وهى تشمل عدة وسائل مثل قياس فرق الجهد potentiometric والقياس الكهربى والمعايرة Amperometric والبولاروجرافية Po-larographic والمعايرة Coulometric . المركبات الهالوجينية العضوية يمكن تقديرها بطرق متعددة منها اجراء تحليل للهالوجين من خلال التكثيف العاكس مع الصوديوم فى الايثانول او الايزوبروبانول . ففى طريقة فرق الجهد Potentiometric يوضع الكترود فضة فى الوسط ويقاس فرق الجهد الذى يحدثه المركب مقارنة بالالكترود القياسى . وفى الثانية الخاصة بقياس التيار am-perometric الذى يقاس عند فولت ثابت ثم تتم المعايرة فى وجود المركب ويلاحظ الفرق . أما الطريقة البولا روجرافية Polarographic فتعتمد على التحليل الكهربى لأحد مكونات المحلول فى خلية تتركب من الكترود قطبى صغير وسهل الاستقطاب واخر غير قطبى . الفولت اللازم للتحلل الكهربى يوضح طبيعة المادة المتفاعلة بينما التيار الملاحظ يوضح وظيفة التركيز . لم يجد هذا التكنيك طريقة الى التطبيق العملى فى الكشف عن المخلفات حتى اليوم بسبب عدم فهم التعقيدات التى تحدث من المواد المتداخلة والموجودة فى المستخلص . ان حساسية هذه الطريقة فى حدود ٢ مللجم/١٠٠ مللیلتر محلول ... هذه الطريقة تتطلب فصل وتنقية المبيد من كل الشوائب بدرجة كبيرة لذلك كانت هذه الطريقـــة محدودة الكفاءة . اما طريقة المعايرة coulo-metric ثم دمجها مع الكروماتوجرافى الغازى منذ ١٩٦٠ (Coulson وزملاؤه) حيث يعمل الاخير على التعريف الوصفى لمخلفات المبيدات الكلورينية ثم تأتى خطوة معايرة ايون الكلوريد الناتج من انحلال المركب العضوى فى منطقة الاحتراق التى تقع فى نهاية عمود الكروماتوجرافى والتى تحول بالاكسدة المبيد والمواد العضوية مثل ثانى اكسيد الكربون والماء والكلوريد وثانى اكسيد الكبريت . تحدث معايرة كلوريد الايدروجين وثانى اكسيد الكبريت باستمرار وبطريقة اتوماتيكية من خلال الايونات المتولدة فى خلية المعايرة المرتبطة بمنطقة الاحتراق . معنى هذا انه بالكروماتوجرافى الغازى يمكن فصل العديد من المركبات وتعريفها من خلال المعايرة الكولومترية ثم تحديد كمياتها

أما طريقة القياس الالكترونى Electron affinity تتمثل فى قياس الايونات المنبعثة بواسطة كاشفات فى غاية الحساســية كما فى الكروماتوجرافى الغازى صائد الالكترونات Electron capture وهذه الطريقة شائعة جدا وتفيد فى قياس الايدروكربونية عديدة التركيب الحلقى حيث يمكن بعمليات تنظيف بسيطة قياس كميات من المبيدات الكلورينية فى حدود نانوجرامات ($١٠^{-٩}$ جرام) وعن طريق تحســين كفاءة الكاشف يمكن قياس كميات اصغر فى حدود $١٠^{-١٢}$ جرام .

وهناك طريقة المعايرة التوصيلية Conductometric titrations عندما تعتمد نقطة التقدير النهائية على التغير فى درجة التوصيل الكهربى فى المحلول الذى سيعاير نظرا لانفراد ايونات فيه ولا تفيد هذه الطريقة فى قياس الكميات الصغيرة .

* طرق التقييم الحيوى Bioassay وفيها تستخدم الكائنات الحية فى الكشف عن مخلفات المبيدات ولكن حساسيتها تختلف ، لذلك لتحقيق الكشف عن كميات صغيرة فى حدود ١ ,٠ – ١ جزء فى المليون لابد من اختيار كائنات شديدة الحساسية للمبيدات مثل الذباب المنزلى ويرقات البعوض والدافنيا والأسماك والجمبرى . خلافا لما هو سائد يجب اجراء عمليات التنقية وتنظيف المستخلصات قبل اجراء عملية التقييم الحيوى . ومن افضل الطرق استخدام الانزيمات فى التقدير وهى تعتمد على مقدرة المركب على تثبيط النشاط الانزيمى ويعيب هذه الطريقة عدم التخصص فى الفعل وعلى سبيل المثال فان العديد من المبيدات الفوسفورية والكارباماتيه ونواتج تمثيلها تثبط نشاط انزيم الاسيتايل كولين استيريز ولكن بدرجات متفاوتة . وتعتمد طرق القياس على تقدير الإنزيم الذى لم يتحلل او الذى تحلل او حمض الخليك المنفرد او كمية الاسيتايل كولين التى لم تشترك فى التفاعل .. الخ . وسنفرد فى هذا الكتاب جزءا كاملا عن استخدام الكائنات الحية Bioindicators فى الكشف عن مخلفات المبيدات . بعض البحاث يعتقد خطأ ان طريقة التقييم الحيوى ليست دقيقة نتيجة للثقة الكبيرة فى التحليل الكيميائى خاصة الاجهزة القديمة والمتقدمة . ولكن تجربتى الشخصية ويشاركنى الكثيرين تقول عكس ذلك ، فعندما كانت الطرق الكيميائية تشير الى عدم وجود المخلفات فى الماء او التربة أو فى النباتات كنت الجأ الى طريقة التقييم الحيوى للتأكيد وكان العامل المحدد هو الاختيار السليم لكائن الاختبار ، فقد استعملت يرقات البعوض والعنكبوت الاحمر .. الخ . لذلك لا غضاضة على الباحث ان يتأكد من النتائج باكثر من طريقة بما فيها التقييم الحيوى .

* هناك طرق التقدير الاشعاعى Radiometric وهو يعنى فى بداية استخدامه العمل بالمواد المشعة أما الآن يعتمد على تنشيط النيوترون فى الأجهزة الخاصة بذلك . تستخدم طريقة تشعيع المبيدات فى موضع معين labelling لدراسة سلوكها ومخلفاتها فى الغذاء من ناحية الامتصاص والتحرك والانهيار والتمثيل . وقد استخدمت هذه الطريقة كذلك لدراسة كفاءة الاستخلاص والتنظيف وتقدير معدلات الاسترجاع مع كل خطوة . اما طريقة تنشيط النيوترونات Neutron activation وهى تعتمد على ادخال النيوترونات فى العينات وكذا المواد القياسية كى تتحول العناصر الثابتة الى نظائر مشعة غير ثابتة isotopes وهذه يمكن تعريفها وقياسها كميا وهذه يصاحبها عد وتمييز خصائص الاشعة المنبعثة من النظائر والبيانات تدمج الكترونيا بما يسمح بتكوين طيف متميز . عندما ينبعث اشعاع ذات مستوى طاقة متماثل من نيوكليدين او اكثر يؤخذ نصف فترة حياة النيوكليدات للتفرقة بين العناصر . لقد نجح هذا الاسلوب فى تقدير المبيدات الكلورينية فى اللبن وحتى حساسية ١٠ جزء فى البليون ، ويعيب هذه الطريقة أنها غير متخصصة ومن مزاياها انها تحتاج لعمليات تنظيف بسيطة وسوف نشير الى هذه الطريقة بالتفصيل فيما بعد .

سواء اجرى التحليل بالطرق الكيميائية أو الحيوية أو غيرهما يجب ان يعرف الباحث أو مسئول التحليل كيف يناقش نتائجه ويدونها ويحصل على الاستنتاجات المطلوبة بما يتفق مع الهدف من التحليل . مع تقدم علم الحاسب العلمى اصبح من الضرورى ان يكون الباحث على دراية باسلوب

التعامل مع هذه التكنولوجيا المتطورة وعليه ان يجرى التحليلات المتطورة وعليه أن يجرى التحليلات الاحصائية والرسوم البيانية بنفسه ولا غضاضة فى السؤال والاستعانة بذوى الخبرات فى هذا المجال .. وعلى الباحث ان يلم بمعايير قياس المخلفات والتعامل معها مثل منحنيات اختفاء المركب ونصف فترة الحياة للمبيد وفترات الامان ما بين المعاملة والاستهلاك الآدمى وحد التناول اليومى المسموح به .. الى غير ذلك .

لقد آثرت على نفسى الا افوت فرصة شرح اول الأوليات فى التحليل الخاص بالمبيدات وغيرها من الملوثات الا وهو كيفية عمل المنحنى القياسى بالطرق الكيميائية أو الانزيمية أو الحيوية وهو ما يطلق عليه Standard Calibration curve أو منحنى السمية Mortality curve وكما هو واضح من التسمية فهو منحنى ولكنى اصحح فهو خط اى علاقة خطية بين Linear relation-ship متغيرين واذا لم يكن خط مستقيم وجب تعديله بالطرق الاحصائية المتعارف عليها سواء باللوغاريتمات أو بالاحتمالات وكلاهما سوف يشرح بالتفصيل فى ابواب تالية . ان عدم معرفة كيفية إقامة هذه العلاقة بعيد تماما عن اساسيات التحليل . العلاقة الخطية بين تركيز المبيد Concentration وأى صورة من صور الاستجابة Response والتى تكون اما لونية أو تثبيط انزيم او غاز منفرد أو كمية مادة وسيطة لم تدخل فى التفاعل او عكارة أو راسب من تفاعل ما أو نسبة موت فى التقييم الحيوى . لابد للاستجابة ان تكون متدرجة مع التركيز بمعنى زيادتها أو نقصها مع زيادة التركيز وليكن معلوما ان هذه العلاقة ليست طردية تماما بمعنى انه عند حد معين لن تحدث استجابة حيث لن تكون هناك فروق يمكن التفرقة بينها بواسطة وسيلة القياس بمعنى انه اذا كانت حساسية جهاز قياس الالوان لا تستطيع ان تقيس اكثر من تركيز معين فلا معنى لقياس تركيز اعلى ونفس الشئ مع التركيزات الواطية التى لا تعطى استجابة يمكن قياسها وكلاهما خارج حدود ونطاق المنحنى القياسى . واذا اردنا التأكد يمكن التخفيف مع التركيزات العالية أو التقوية fortification مع التركيزات الواطية بمعنى اضافة كمية معينة معروف استجابتها القياسية من تكرار التجربة وبعد ذلك تقاس الاستجابة الجديدة والفرق بمثل كمية المبيد الموجودة والتى لا يستطيع الجهاز قياسها او نلجأ لاختبار تأكيدى حيوى أو خلافه .

على الباحث ان يعرف كيفية تحضير التركيزات فعليه ان يحضر محلول قياسى به تركيز عالى ثم يجرى التخفيف ببعض المذيب ويجب الا يخزن المحلول القياسى لأكثر من شهر ، واذا كانت المادة القياسية متوفرة يفضل ان يحضر طازجا وليكن معلوما ان اى خطأ فى وزن العينة الأولى سيترتب عليه خطأ كبير وفشلا فى التحليل ، ونفس الشئ مع اى خطأ فى تداول التركيزات وكذلك فى تجهيز المحاليل القياسية الوسيطة .. لا غضاضة فى ان اذكر بخطورة عدم استعمال زجاجيات أو أدوات غير نظيفة أو كيميائيات غير نقية أو العمل فى معمل ملوث .. ما دمنا بصدد الكلام عن منحنى قياسى يجب ان يكون كل شئ قياسيا .

يجب الحصول على المواد القياسية للمبيدات من مصادر موثوق بها وعلى الباحث ان يتأكد بنفسه حتى لو حصل عليها من مصادرها الاصلية فقد تحدث اخطاء وكثيرا ما حدثت . وهناك حدود لامكانية عمل المنحنى القياسى من المستحضرات التجارية لما تحتويه من مواد اضافية قد تتداخل مع طريقة التقدير لذلك وجب اجراء التنقية ثم تعريف المادة الفعالة المنقاة قبل العمل بها . هناك شركات كثيرة تبيع المواد القياسية للمبيدات وغيرها من الملوثات البيئية وهى وان كانت غالية الثمن الا ان الحصول عليها ضمان كبير لعمليات التحليل . والعينات القياسية يجب ان تخزن فى ثلاجة شديدة التبريد حتى لا تتحلل او تتكسر او تتحول الى مواد اخرى وبعد خروجها من الثلاجة عند الوزن او أخذ حجم معين تترك فى درجة حرارة الغرفة حتى يكون الوزن او الحجم دقيقا . وعلى الباحث ان يتأكد بنفسه من بيانات العينة القياسية ويلاحظ اية تغيرات فى الشكل او اللون او القوام من جانب الأمان . واذا حدث اى شك يجب اجراء اختبار تأكيدى سريع لأحد الصفات الطبيعية أو الكيميائية ويمكن استعمال الفصل الكروماتوجرافى السريع علـــى الالواح الزجاجية (TLC) .

لقد لاحظت ان البعض يبدأ المنحنى القياسى من عند نقطة الصفر وهذا به مغالاة لأن اى طريقة تحليل تبدأ الاستجابة عند تركيز معين ولا استجابة للصفر تركيز ، لذلك وجب ان يكون الخط من الصفر وحتى اول تركيز يعطى استجابة خط متقطع (---) . بعد رسم العلاقة الخطية يحدد ميل الخط Slope حسابيا من معادلة الخط المستقيم (ص = م س + جـ) حيث م هى ميل الخط ولا يجب ان يكون هناك قاطع (جـ) الا فى حـــالات خاصة ويفيـــد الميل (م) أو k-value فى حساب التركيزات المجهولة بعد تقدير الاستجابة من العينات الغير معلوم تركيز المبيد فيها .

يجب الا تقل عدد التركيزات لاقامة المنحنى القياسى عن اربعة ويفضل ان تكون خمسة وان كان البعض يعمل المنحنى بثلاثة تركيزات فقط وان جاز ذلك فى معامل تقدير جودة المستحضرات Quality control فلا يجوز فى معامل الكشف عن المخلفات . كما سبق القول هناك التركيز القياسى الذى يستخدم فى تقوية العينات المحتوية على كميات اقل من حدود التقوية وهى تعطى نفس الاستجابة كلما كرر التقدير وهو ما يعرف بالاصطلاح Reproducible ، كما ان هناك المادة القياسية الداخلية Internal standard وهى تضاف الى العينات بهدف التصحيح والتأكيد ففى حالة عدم استقرار التيار الكهربى – على سبيل المثال – وهو امر شائع فى كثير من المعامل فى الدول النامية تكون وسيلة المادة القياسية أو المعيارية الداخلية مطلوبة بل ضرورية لتصحيح العينات وكذلك للتأكد من سلامة ظروف التشغيل فى حالة الكروماتوجرافى الغازى ..

عينات المقارنة من اخطر الاخطاء وهى ما تعرف Blank test وهى العينات التى تحتوى على جميع الجواهر الكشافة والمواد الوسيطة التى تضاف للعينة فيما عدا المبيد وكثيرا ما ادى تجاهل او الجهل بأهمية هذه العينات الى فشل وعدم دقة التحليل لأن المواد الوسيطة كثيرا ما تعطى نفس

الاستجابة التى يحدثها المبيد اذا كانت غير نقية وتحتوى على شوائب . وقد تجرى اكثر من عينة للمقارنة قياسية كما فى حالة التقديرات الانزيمية احدهما لتقدير نشاط الانزيم والاخرى لتقدير استجابة الشوائب . اكرر القول ان المعايرة هى الأساس والقياسية هى العامل المحدد لنجاح التحليل . هل يتصور احد ان يقوم باحث بالكشف عن المبيدات الكلورينية باستخدام ماء الصنبور العادى المحتوى على الكلور المضاف .

ان تجربتى الشخصية اكدت اهمية معايرة المواد القياسية عندما كنت استخلص مبيد السيفين الكرباماتى من عينات التربة السلتية حيث كنت اضيف كمية معينة على وزنة معينة من التربة وبعد الاستخلاص والتنقية كنت احصل على اضعاف الكمية التى اضيفت للتربة وبعد عناء وجهد وتغيير المواد الوسيطة وتجهيز الجواهر الكشافة مرات عديدة واستخدام الجواهر النقية اتضح ان التربة السلتية بعد اضافة الصودا الكاوية الكحولية تعطى مادة الالفانافثول وهى نفس المادة الناتجة عن التحلل القلوى لمبيد السيفين وبعدما تأكدت من هذه الحقيقة كان لا بد من اجراء عمليات تنقية على اعلى مستوى واستخدام طريقة التقدير الانزيمى بدلا من الطريقة اللونية مع ملح الديازوثيوم .

لقد ترددت كثيرا فى ان اضمن هذا الموضوع خطوات انشاء المنحنى القياسى للمبيد بالطرق المختلفة واثرت فى النهاية ان اتناولها بالرغم من ان هذا الجزء ما زال يتناول متطلبات ما قبل التحليل حتى يستطيع الباحث المبتدئ ان يلم بالمعلومات الاساسية ويقف على اول خطوات التحليل .

بالرغم من ان قائمة المراجع قديمة جدا ولكن الاساسيات تظل اساسيات والمعرفة بها مطلوبة بل ضرورية لذلك سأضمنها هذا الجزء ثم سأضمن الحديث أماكن اخرى ... ارجو المعذرة ولكننى أتصرف بناء على خبرتى فى مجال التحليل .

يجب على مسئول تقدير مخلفات المبيدات ان يلم بالاساليب والاساسيات ويعرف معنى فترة الأمان وهى تختلف من مركب لآخر ومن نبات لآخر وعليه ان يأخذ فى الاعتبار الظروف المناخية والدور الذى يمكن ان تؤثر به على ثبات المخلفات وتحولها الى مركبات اخرى وكذلك تلعب عمليات الغسيل للخضروات دورا فى تحديد كمية مخلفات المبيدات خاصة السطحية ونفس الشئ مع عمليات التجهيز والتصنيع .

لا يجب اغفال مسئوليات الجهات الحكومية فى التقليل من حدة مشكلة المخلفات ونفس الشئ يقع على عاتق المزارعون .. لذلك لا بد من تعظيم دور الارشاد الزراعى المستنير للتعريف بابعاد مشكلة المخلفات وخطورتها على الصحة العامة .. وسوف نتناول هذه الموضوعات بالتفصيل فيما بعد ...

R EFERENCES قائمة المراجع

Anderson, C. A., Adams, J. M., and MacDougall, D. (1959). J. Agr. Food Chem, 7, 256.

Averell, P. R., and Norris, M. V. (1948) Anal. Chem. 20,753.

Bann, J. M., (1957). "A Review of Residue analysis Methods for the Determination of Aldrin, Dieldrin, Endrin and Phosdrin Insecticide." Memo. Shell chemical Corp., New York, N. Y.

Blinn, R. C. (1960). In "Instrumental Methods for the Analysis of Food Additives" (W. H. Butz and H. J. Noebels, eds.), Chap. IX, p. 125. Interscience, New York.

Blinn, R. C., Gunther, F. A., and Mulla, M.S. (1960). J. Econ. Entomol, 53, 1129.

Bowen, C. V., and Edwards, F. I., Jr. (1950). Adavances in Chem. Ser. No. 1, 198; Anal. Chem. 22, 706.

Bowman, J. S., Gauditz, I., and Robbins, A. J. (1961). 140th Am. Chem. Soc. Meeting, Chicago, Illinois Sept. 3-8, 1961.

Carter, R. H., and Hubanks, P. E. (1946). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 29, 112.

Castro, C. E., and Schmitt, R. A. (1962). J. Agr. Food Chem. 10, 236.

Clifford, P. A. (1947). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 30, 337.

Cook, J. W. (1954). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 37, 561.

Coulson, D. M., Cavanagh, L. A., deVries, J. E., and Walther, B. (1960). J. Agr. Food Chem. 8, 399.

Craig, L. C., and Craig, D. (1956). In d"Separation and Purification" (A. Weissberger, ed.), Part I, Vol. III, pp. 149-332. Interscience, New York.

Cueto, C., Jr., Barnes, A. G., and mattson, A. M. (1956)k. J. Agr. Food Chem. 4, 943.

Davidow, B. (1950). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 33, 130.

Dewey, J. E. (1958). J. Agr. Food Chem. 6, 274.

Fairing, J. D., and Warrington, H. P. (1950). Advances in Chem. Ser. No. 1, 260.

Fallscheer, H. O., and Cook, J. W. (1956). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 39, 691.

Fukuto, T. R., dMetcalf, R. L., march, R. B., and maxon, M. G. (1955). J. Econ. Entomol. 48, 347.

Glang, P.A., and Hall, S. A. (1951). Anal. Chem. 23, 1830.

Gunther, F.A., and Blinn, R. C. (1950). Advances in Chem. Ser. No. 1, 72.

Gunther, F.A., and Blinn, R. C. (1953). J. Agr. Food Chem. I, 325.

Gunther, F.A., and Blinn, R. C. (1955). In sd"Analysis of Insecticides and Acaricides" (Gunther and Blinn, eds.), Vol. 6, Chapt. 14, pp. 226-259. Intersicience, New York.

Gunther, F.A., and Blinn, R. C. and Barnes, M.M. (1957). J. Agr. Food Chem. 5, 198.

Gunther, F. A., Blinn, R. C., and Barkley, J. H. (1959). J. Agr. Food Chem. 7, 104.

Hestrin, S. (1949). J. Biol. Chem. 180, 249.

Hornstein, I. (1955). J. Agr. Food Chem. 3, 848.

Hoskins, W. M., and Messengerd, P.S. (1950). Advances in Chem. Ser. No. 1, 93.

Hudy, J. A., and Dunn, C. L. (1957). J. Agr. Food Chem. 5, 351.

Jones, L. R., and Riddick, J.A. (1952). Anal. Chem. 24, 569.

Klein, A. K. (1958). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 41, 551.

Klein, A. K. (1960). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 43, 703.

Klein A. K., Laug, E. P., and Sheehan, J. D. (1959). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 42, 539.

Kolthjoff, I. M., and Kuroda, P. K. (1951). Anal. Chem. 23, 1306.

Lovelock, J. E. (1961), Anal. Chem. 33, 162.

MacDougall, D. (19k61). 18th Intern. Congr. Pure and Appl. Chem., Montreal August 7-9, 1961. Section C-3. Paper 15.

March, R. B., Metcalf, R. L., and Fukuto, T. R. (1954). J. Agr. Food Chem. 2, 732.

March, R. B. Metcalf, R. L., Fukuto, T. R., and Maxon, M. G. (1955). J. Econ. Entomol. 48, 355.

Metcalf, R. L., March, R. B., Fukuto, T. R., and Maxon, M. G. (1954). J. Econ. Entomol. 47, 1045.

Metcalf, R. L., March, R. B., Fukuto, T. R., and Maxon, M. G. (1955). J. Econ. Entomol. 48, 364.

Plapp, F. W., and Casida, J. E. (1958). Anal. Chem. 30, 1622.

Pollard. G. E. (1957), 131st Am. Chem. Soc. Meeting, Miami, Florida April 7-12, 1957.

Schechter, M. S., and Hornstein, I. (1957). Advances in Pest Control Research I, 353-447.

Schechter, M. S., and Westlake, W. E. (1962). Anal. Chem. 34, 25 A.

Schmitt, R. A., and Zweigd, G. (1961). 140th Am. Chem. Soc. Meeting, Chicago, Illionois.

Sun, Y. P. (1957). Advances in Pest Control Research I, 449-496.

Van Middelem, C. H., Waites, R. E., and Wilson, J. W. (1963). J. Agr. Food Chem. 11, 56.

Walker, K. C. (1960). U.S. Dept. Agr. Dept. No PCY-60-6.

Warshowsky, B., and Schantz, E. J. (1950). Anal. Chem. 22, 460.

Zweig. G., Archer, T. E., and Rubenstein, D. (1960). J. Agr. Food Chem. 8, 403.

الفصـــل الثـالـــث

ارشادات ودلائل تقييم اداء طرق تحليل المبيدات من خلال الدراسات المشتركة فى مركز سيباك Cipac .

* مقدمـــة Introduction
* هدف دلائل ووثيقة CIPAC فى تحليل المبيدات .
* اختيار الطرق للدراسات المنسقة والمترابطة والمشتركة Choice
* التجارب والاختبارات الأولية Pilot trial
* التجربة المشتركة الكاملة Full collaborative trial
* تحديد وتطويع المعامل Recruitment of laboratories
* التحضير والتجهيز للتجربة المشتركة Preparation
* تعليمات عن اداء التحليل Instructions for the performance of the analysis
* توزيع العينات Dispatch of samples
* التحليل الاحصائى للنتائج Statistical treatment of results
  - الحسابات الأولية Preliminary calculations
  - حساب r التكرارية R , repeatability دوام اعطاء نفس النتائج Reproduibity
  - العلاقة الوظيفية بين r (أو R) و x
  - تقييم نتائج التحليل الاحصائى Evaluation of the statistical results
* تمثيل بيانات الدقة Presentation of precision data
* استخدام بيانات الدقة Utilization of precision data
* قبول Acceptability of R, r
* التقرير النهائى Final report
* تذييل .
* المراجع References


obeikandl.com

★★ ارشـــادات ودلائـــل تقييـــم اداء طــرق تحليـــل المبيـــدات من خلال الدراسات المشتركة في مركز سيباك Cipac .

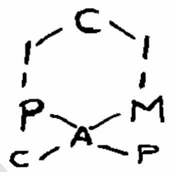
* * *

* مقدمـــة Introduction :

ما دعانى الى كتابة هذا الموضع ايمانى بأن كثير من الزملاء البحاث لا يعلمون الا اليسير عن هيئة السيباك « CIPAC » التى تعنى بوضع الطرق القياسية لتحليل المبيدات وهذا الاختصار معناه "Collaborative international pesticides analytical council limited" اللجنة الدولية المحدودة المشتركة لتحليل المبيدات ... ويتبعها اللجنة الدولية لطرق تحليل المبيدات CIMAP

Commission Internationale des mèthodes d'analyse des pesticides

والعلامة المميزة للهيئة واللجنة على النحو التالى :



وقد اعدت هذه الورقة بناء على طلب رابطة « GIFAB » وهى اختصار المجموعة الدولية للروابط القومية لصناع المنتجات الزراعية اعدت من اجل بواسطة :

P. Baker (ICI Agrochemicals, Yalding, Kent, England).

N.C. Franklin and K. Pavel (Bayer AG, Pflanzerschutz,

Leverkusen, Fed. Rep. of Germany).

" International Group of national Associations of Manufacturers of Agrochemical Products"

وفى هذا المقام اود الاشارة الى قيام وانشاء هيئة مصرية تضطلع بمسئولية التوعية بمخاطر المبيدات تضم بين عضويتها معظم الشركات العالمية وممثليها فى مصر واساتذة جامعات وممثلى وزارة الزراعة المصرية والمعمل المركزى للمبيدات والعضوية مفتوحة امام اى مشتغل فى مجال المبيدات ومكافحة الآفات وكذلك هيئات القطاع الخاص وممثلى التجار والموزعين ومصانع المستحضرات الحكومية والأهلية .

ونأمل ان تجد الجمعية دورا للتعاون وتلقى الاسهامات المادية والمعنوية من جهاز شئون البيئة المصرى وغيرها من الهيئات المماثلة الدولية . يمكن الرجوع لهذه الجمعية عند حدوث منازعات بين الشركات وبعضها أو بينها وبين وزارة الزراعة والهدف واحد ألا وهو حماية الانسان والبيئة المصرية من خطر واضرار هذه السموم وترشيد استخدامها باسلوب آمن وفعال .

من المؤسف ان هذه الجمعية المعنية مباشرة بامور المبيدات واخطارها البيئية تلقى مقاومة شديدة وغير شريفة من عناصر كثيرة لا تتسم بالمسئولية هدفها افشال دورها المطلوب تحقيقا لأهواء شخصية ولا سبيل الا بتخليص هذه المهنة من الدخلاء والغير مقدرين لخطورتها . لذلك كان من الضرورى ان اضع امام القارئ الكريم معلومات كافية عن الجمعية المصرية للمنتجين والمشتغلين والمتعاملين مع المبيدات فى مصر ...

فى الاجتماعات التمهيدية والتحضيرية لتأسيس هذه الجمعية طرحت العديد من التصورات وبناء عليها تم تحديد مبدئى للغرض من انشاء الجمعية والاهداف المرجوة منها على النحو التالى :

العمل على تشجيع الانتاج الامثل للاغذية والالياف من خلال خلق الحماية المناسبة للمحاصيل التى تعالج بالكيماويات الزراعية .

* زيادة الوعى العام والخاص للمشتغلين والمتعاملين والمستهلكين للكيماويات الزراعية .

* التنظيم والتنسيق والد فاع عن المصالح المشتركة لاعضائها العاملين فى مجال الكيماويات الزراعية وحمايتها .

* وضع الاسس والقواعد العلمية والفعلية ونقل الخبرات المتاحة فى عالمنا المعاصر لنهج افضل السبل فى انتاج ونقل وتعبئة وانتقال الكيماويات الزراعية بصورة امنة ودقيقة وعلمية بما يكفل حماية الانتاج الزراعى بصفة عامة ووفقا للقوانين واللوائح والنظم الوطنية والمعايير الدولية .

* نشر الوعى على تفهم طبيعة الكيماويات الزراعية وضرورات استخدامها وافضل طرق الاستعمال لتنمية الثروة الزراعية والتصدى للممارسات الخاطئة وغير القانونية والمحظورة فى مجال الانتاج والتداول والاستعمال للكيماويات الزراعية .

* المساهمة وتقديم المعونة المادية والفنية لتدريب المهتمين والمتعاملين بالكيماويات الزراعية بغرض حماية وتنمية الثروة الزراعية .

* احترام حقوق الملكية الصناعية وبراءات الاختراع محليا ودوليا فى مجال الكيماويات الزراعية من اجل استمرارية التقدم العلمى .

بعد عدة اجتماعات تبلورت الفكرة وتم التأسيس واخذت الجمعية الاسم الرسمى والوثائق وتكون مجلس الادارة .

الجمعية المصرية
للمنتجين والمشتغلين بالكيماويات الزراعية
« إيبـــا »
"EAAPA"
المشهرة بوزارة الشئون الاجتماعية
تحت رقم ٣٩٨١ لسنة ١٩٩٣

العنوان : ٣٧ شارع قصر النيل – القاهرة – الدور الثالث – شقة ٢٣ – تليفون : ٣٩٢٤٣١٠ – ٣٩٢٢١٢٣

العضـــوية :

- جميع ممثلى الشركات العالمية فى مصر والمهتمة بهذا المجال وبأشخاصهم الطبيعية (مؤسسين)
- ممثلى المنتجين المحليين (مبيدات) باسمائهم الطبيعية أو الاعتبارية .
- من يرغب من ممثلى الهيئات والوزارات والمشتغلين بالكيماويات الزراعية .
- من يرغب من اساتذة الجامعات أو المعاهد والعاملين فى نفس المجال .

الغرض من تأسيس الجمعية :

تنظيم ندوات دورية للمناقشات العامة بين الاعضاء حول التداول والاستخدام الآمن للكيماويات الزراعية فى مصر مع تعاظم دور القطاع الخاص .

الاهداف العامة :

حماية البيئة والانسان المصرى ... بتحقيق الآتى :

أولا : الاستخدام الامثل للكيماويات الزراعية وخاصة المبيدات (عن طريق الندوات والنشرات الدورية والتدريب ... الخ) .

ثانيا : سلامة التداول والتخزين والتخلص من المخلفات (التوعية بكافة الوسائل)

ثالثا : الاعلام الكافى والواضح والملتزم عن الكيماويات الزراعية (المرئى والمسموع)

رابعا : تبادل المعلومات والخبرات والتدريب بالتعاون مع الجمعيات المحلية والدولية المتخصصة .

* هدف دلائل ووثيقة CIPAC فى تحليل المبيدات :

تستعرض وثيقة بروتوكول CIPAC الطريقة أو الطرق الواجب اتباعها عند اجراء دراسات متكافئة تبعا لتعليمات السيباك على الصور النقية والتجارية للمبيدات . تعتمد هذه الوثيقة على المعلومات المتوفرة لدى السيباك من خلال التجارب والتداول الفعلى وهى تشمل التوصيات التى خرجت من اللقاء الذى نظمته الجمعية الدولية للمبيدات الزراعية IUPAC الخاصة بطرق تحليل المبيدات وسبل التعاون فى توصيفها والذى عقد فى جنيف بسويسرا فى ٤ - ٥ مايو ١٩٨٧ حيث اخذ المجتمعون فى الاعتبار اصدار الهيئة الدولية للمواصفات القياسية « ISO » . International standard organization رقم ٥٧٢٥ عام ١٩٨٦ والتى اجريت على اساسها طرق التحليل الاحصائى .

هدف كل لجنة من لجان CIPAC الحصول واصدار طرق تحليل مناسبة ذات كفاءة مرضية لكل مبيد من المبيدات الموجودة فى المنطقة الخاصة بالهيئة والتى تعضد من خلال الدراسات الدولية المتبعة بين الجهات المختلفة . هذه الطرق تستخدم فى الاغراض والمنازعات التجارية وتدعيم المواصفات القومية والدولية للمبيدات .

* اختيار الطرق للدراسات المنسقة والمشتركة :
Choice of methods for collobarative study

تعرف الدراسات المشتركة أو المنسقة على أنها دراسات بين المعامل المختلفة inter-laboratory حيث يقوم كل معمل باستخدام طريقة التحليل المعينة والمتفق عليها لتحليل نسب معينة ومعلومة من مواد متماثلة لتقدير المواصفات التى تسفر عنها طريقة التحليل . وليكن معلوما ان الدراسة المشتركة ما هى الا اختبار أولى للطريقة وليس لتقييم المعمل . لذلك يجب ان تستخدم الطريقة بنفس خطوات التطبيق الفعلى والعملى واى تغيير أو تحوير عن الطريقة يجب ان يذكر ويدون فى التقرير لتفسير اية نتائج لا تتمشى مع المعامل الاخرى .

يجب ان يكون مجال اختيار الطريقة محدودا وفى اضيق نطاق وغالبا تكون هناك طريقة واحدة متاحة ومنشورة واجبة الاتباع وقد توجد اكثر من طريقة فى المراجع ذات مميزات معينة ومع هذا يجب اتباع نفس الطريقة فى المعامل المختلفة . لذلك يفضل ان تتبع الطريقة الموصى بها من قبل الشركات المكتشفة والمصنعة للمبيد منعا لأية صعوبات او اجتهادات . الطرق المناسبة لتقدير تركيزات اى مركبات كيميائية بما فيها المبيدات يجب ان تحقق المواصفات والنقاط التالية :

أ - امكانية التطبيق **Applicability** :

يجب ان تكون الطريقة صالحة لتقدير والكشف عن مدى واسع من المركبات والتركيزات لكل مركب ومن ثم وجب ان تتميز بالتخصص Selectivity والحساسية Sensitivity .

ب – موثوق بها Reliability والدقة Accuracy والاحكام Precision (كلا المعيارين يتسما بالتكرارية واعطاء نفس النتيجة عند التكرار Repeatability & reproducibility ويجب ان يحققا القبول .

جـ – التنفيذ العملى Practicability يجب ان تحقق الطريقة السرعة وقلة التكلفة كما يجب ان تعتمد الطريقة على الجواهر الكشافة والاجهزة المتاحة كما تحقق الأمان عند التداول والتنفيذ بواسطة المدربون والعاملون .

لا يوجد دائما طريقة واحدة يمكنها تحليل عينات المبيدات النقية والمستحضرات التجارية . وفى هذه الحالة يجب فصل المستحضرات وتحليلها بطريقة اخرى . اذا كانت طريقة واحدة تكفى وتعطى نتائج تحليل مرضية كان من الضرورى على مسئول التحليل الحصول على معلومات اضافية قبل اجراء اى خطوات معملية داخلية . الدراسات المشتركة تتطلب مجهودات كبيرة وتستخدم فقط للطرق التى درست تفصيليا من قبل وهى تشمل تحديد وتقدير الانحراف الكلى لنتائج التحليل المعروفة والمتوقعة بين المعامل المختلفة Laboratory standard deviation وداخل المعمل نفسه . بالاضافة الى ذلك يجب الحصول على المعلومات الخاصة بالاخطاء التقليدية التى تحدث فى المعمل أو المعامل .

* الاختبارات الأولية والمسبقة للتحليل المشترك ... يجب ان تشتمل على النقاط التالية ما أمكن :

١ – مقدرة الطريقة على قياس الصور الطبيعية والكيميائية لمادة التحليل بنفس المقدرة لهذه المواد المنفردة .

٢ – تأثير المواد الأخرى الشائع وجودها بتركيزات معتبرة فى النواتج والتى يمكن ان تتداخل مع طريقة التحليل .

٣ – التأكد من نتائج التحليل للطريقة على المواد القياسية .

٤ – تحديد معدل استرجاع المادة المخلقة المجهزة خصيصا والمحتوية على كميات معلومة من مادة التحليل .

٥ – مقارنة نتائج التحليل بالطريقة محل الدراسة مع الطرق الاخرى المتوفرة على نفس المواد .

٦ – يجب الا تسبب الخطوات الموصفة والمعايرة والتصحيح بالعينة الخالية من مادة التحليل Blank اية تغيرات أو تجهيزات معنوية .

٧ – قسوة وصرامة الطريقة يجب ان تختبر وتقيم بواسطة المعمل الاصلى لذلك يجب الرجوع الى الطريقة المنشورة فى كتاب JAOAC عام ١٩٨٨ (التقرير النهائى الرابع) . المرجع رقم (٣) بعد ذلك يجب كتابة وتدوين الطريقة بوضوح وبدون غموض بناء على الاعتبارات الواردة فى دليل

المواصفات القياسية ISO Guide 18-1978 d(E) كما فى المرجع رقم (٤) . وفى العادة تكون جميع المعلومات المتاحة عن الطريقة مسئولية كاملة للمعمل الاصلى أو منسق مثل هذه الدراسات . اذا لم يكن هناك معمل محدد مسئول عن طريقة التحليل يقوم رئيس مجموعة العمل على المستوى القومى او الدولى بتحديد منسق عام للطريقة فى هذه المرحلة الاولى يضطلع بمسئوليات التجارب المسبقة المشار اليها أعلاه .

*** التجارب والاختبارات الأولية Pilot trial :**

قبل البدء فى اجراء تجارب حتى ولو كانت على المستوى الصغير ينصح بالتشاور مع الفرق والهيئات الاخرى للتأكد من القبول المشترك للطريقة المقترحة . اذا تأكد من قبول الطريقة تجرى تجربة أولية تشمل ثلاثة أو اربعة طرق والتى لا يشترط ان تكون جميعها على دراية أو خبرة كاملة عن التنفيذ العملى للطريقة المقترحة . على هذه المعامل ان تتبع خطوات التحليل المتفق عليها ولكن لها حرية اقتراح واجراء اى تحويرات فى الطريقة اذا كانت ستؤدى الى تحسين ملموس فى الكفاءة والدقة . وهذه التحويرات يجب ان ترمل فى تقرير الى المنسق العام للطريقة . ان قصر التجريب على عدد قليل من المشاركين والمعامل يؤدى الى سرعة وسهولة تبادل المعلومات والتشاور عن الصعوبات . من هنا فان الطريقة المقترحة للتجارب المشتركة الكاملة قد تختلف قليلا عن الطريقة الاصلية بسبب الصعوبات او الآراء او التحويرات المختلفة .

نتائج هذه الدراسة (التجربة أو التجارب الاولية) قد تستخدم لتحديد وحساب التكرارية وكفاءة الطريقة عند التكرار وهى تعطى دليلا على مطابقة قياسين لنفس العينة وهذا هو المستهدف تحقيقه فى التجربة النهائية والكاملة . من هذه النتائج المتحصل عليها من التجربة الاولية يقوم المنسق العام القومى او الدولى وكذلك اللجان المعنية على المستويات المحلية أو العالمية ان تقرر ما اذا كانت الطريقة مناسبة وتصلح للانتقال الى مرحلة العمل المشترك collaborative . اذا تقرر عدم صلاحية الطريقة للعمل المشترك يجب تقرير امكانية عمل تحويرات modifications أو اختيار طريقة اخرى . كذلك يجب تكرار الطريقة الاولية مع الطريقة الجديدة .

*** التجربة المشتركة الكاملة Full collaborative trial**

*** تحديد وتطويع المعامل Recruitment of laboratories :**

تدعى المعامل للمشاركة من خلال الاتصالات المعروفة (مثل استمارة معلومات السيباك CIPAC information sheet التى ترسلها سكرتارية السيباك لهذه المعامل . هذه الاستمارة التى ترسل للمعامل لا تحتوى فقط على اساس الطريقة ولكن وفى حالة الطرق التى تستخدم الاجهزة instrumental methods تعطى المعايير الهامة الواجب اتباعها . كذلك يجب الحصول على تأكيدات من المشاركين القادمين مستقبلاً على استعدادهم وضرورة اتباعهم للطريقة المقترحة فى المستقبل . من الناحية النموذجية يفضل اختيار المعامل التى ستشارك فى التجربة او

التجارب المشتركة عشوائيا من بين المعامل التى ابدت استعدادا للمشاركة فى التجربة وقبلت جميع الاعتبارات المقترحة ولكن من الناحية العملية وكما سبق القول يجب قصر العمل على عدد محدود من المعامل . اذا كانت الدراسة مخطط لها الاستخدام على النطاق الدولى يجب اشراك المعامل من دول مختلفة . وهذه المعامل التى سيقع عليها الاختيار يجب ان يكون فيها اشخاص ذو خبرة معروفة فى طرق التحليل وليس من الضرورى ان يكون ذوى خبرة فى الطريقة المقترحة .

هناك توصية بألا يقل عدد المعامل المشتركة فى التجربة الكاملة عن ٨ معامل . فى حالة عدم امكانية توفير هذا العدد يمكن تقليل العدد بشرط الا يقل عن خمسة معامل وهذا يستتبع زيادة حدود الثقة والدقة confidence limit وقد يقول قائل بضرورة زيادة عدد المعامل عن ٨ ووصولها الى ١٥ معمل فى بعض الاحيان وان كان هذا صحيحا الا ان السيطرة وادارة مثل هذا العدد الكبير من المعامل من الصعوبة بمكان .

*** التحضير والتجهيز للتجربة المشتركة Preparation :**

يجب اخذ النقاط التالية فى الاعتبار عند وضع برنامج التحليل :

١ – يجب توفر المادة القياسية محل التحليل وهذه يجب الحصول عليها من الشركة المنتجة أو من مصدر متخصص فى المواد القياسية (يمكن الحصول على القائمة من مرجع CIPAC D. P 186 FF. .

٢ – المستويات التى تستعمل وتختبر فى التطبيق العملى يجب ان تختار وتحدد فى الطريقة (اما ان تكون مواد فعالة أو ٥٠٠ جم/ كجم مركز قابل للاستحلاب ... الخ) .

٣ – بعد اختيار المستويات يجب تحليل عدد من المواد فى نطاق هذه المستويات . اذا كان هناك اكثر من صانع يجهز وينتج المادة بنفس المستوى يجب اختيار اكثر من عينة للتحليل . بالاضافة الى ذلك ولكى تختبر صعوبة الطريقة يجب ان توجه الجهود نحو اختيار عينة صعبة . الحد أو العدد الأولى للعينات فى تجارب التحليل المشترك يجب الا تقل عن خمسة وهذه يمكن تقليلها الى ثلاثة فى حالة ما اذا كانت هناك عينة فردية وذات مستوى واحد من المادة الفعالة فقط فى حالة مستحضر واحد أو مادة نقية واحدة .

٤ – يجب اجراء تحليلات مزدوجة فى كل معمل Duplicate analysis بمعنى ضرورة اجراء التحليل على عينتين من نفس المستوى على ان توزن وزنة مستقلة من كل عينة وتحلل مرة وتكرر الخطوات مع بعضها مرة اخرى . فى حالة التحليلات الكروماتوجرافية تحقن كل عينة مرتان وبذلك نحصل على مجموعتان من النتائج . هذه الحقنات ليست مطلوبة للتحليل الاحصائى حيث تؤخذ متوسطاتها ولكنها تعطى دليلا واضحا ومؤكدا عن كفاءة الكروماتوجرافى كما تعطى المسئول واللجنة القومية أو الدولية معلومات اضافية .

٥ - يجب تحديد الوزن من المادة اللازم لكل معمل .

٦ - معمل واحد فقط غالبا المعمل الرئيسى او منسق عام الدراسة يكون مسئولا عن تقسيم العينات وتوزيعها . ومن مسئوليات المعمل المنظم لعملية التوزيع التأكد من ان المواد القياسية والعينات متجانسة قبل البدء فى توزيعها . اذا كانت العينات محتاجة للصهر قبل الاستخدام لابد ان تتضمن التعليمات التأكيد على ثبات المادة مع عملية الانصهار لن يتأثر . بالنسبة للعينات الصعبة مثل المعلقات المركزة وجب بل من الضرورى توفر طريقة للتجزئة .

٧ - يمكن ارسال بعض المواد الاضافية لاجراء تجارب اولية على مستوى صغير حتى يتعودوا على النظام الخاص بالتحليل المشترك قبل البدء فى التجربة المشتركة الكلية .

٨ - يجب تحديد قيمة ارجاع او اصدار وارسال النتائج مسبقا .

* تعليمات عن اداء التحليل

Instructions for the performance of the analysis

يجب كتابة الطريقة على استمارة السيباك CIPAC format وعلى المنسق العام التأكد من ان التعليمات الآتية قد ارسلت الى المعامل :

١ - التعليمات الضرورية للمشتركين فى التحليل والخاصة بالعينات المجزئة (تجزئ العينات) sub-sampling أو تجانس العينات (طحن العينات) homogenization أو تحت العينات أو المواد القياسية .

٢ - اى خطوات خاصة واجبة الاتباع لمعايرة الجهاز قبل الاستخدام (مثل عدد حقنات العينات أو المواد القياسية قبل بداية التحليل بالكروماتوجرافى الغازى وكذلك تحديد ما الذى يجب تكراره فى الحقنات المزدوجة قبل بدء التحليل) .

٣ - تتابع حقن العينات ومعايرة المحاليل وعدد المحاليل القياسية المطلوبة فى الطرق الكروماتوجرافية . بعد برنامج المعايرة وتوازن الجهاز فان تتابع الحقن العادى للطرق الكروماتوجرافية يجب ان يتضمن معايرة (١) ، عينة (أ) ، عينة (أ) .

معايرة (٢) - عينة (ب) ، عينة (ب)

عادة ما تكون المعايرة (١) والمعايرة (٢) منفصلان لذا وجب وزن كل منهما على حدة . ولذلك سنحصل على نتيجتان لكل عينة وكلاهما سيتأرجحان حول المتوسط . المعايرة الأولية تجرى باستخدام أوزان ٠,٥ ، ٠,١ ، ٢ جرام وحدة وزنية من المادة القياسية هذه المعايرة ستوضح خطية العلاقة والاستجابة مع التركيز . المحلول الوسطى فى المعايرة يمكن استخدامه للتأكد من دقة المحاليل القياسية للتجربة المشتركة بما يؤكد عدم حدوث انهيار معنوى .

٤ – ان اى اسئلة تريد المعامل المشتركة فى التحليل الإستفسار عنها للتأكد من ان جميع التفصيلات الخاصة بالتشغيل والظروف خاصة أية تحويرات عن الطريقة الاصلية قد أرسلت .

٥ – المعادلات و / أو الحسابات التى يجب استخدامها لتحويل البيانات المتحصل عليها الى نتائج تضمن التقرير بما فيها معانى الرموز الموجودة فى المعادلات .

٦ – عدد الارقام المعنوية المطلوبة فى النتائج المدونة .

٧ – معلومات خاصة عن تخزين المواد القياسية والعينات والمحاليل القياسية المحضرة وكذلك فترة ثبات المحاليل والجواهر الكشافة أو ما يعرف بفترة التخزين على الرف Shelf life .

٨ – اذا اقتضت الضرورة ما هو الوقت الذى يوقف عنده التحليل او متى ينتقل التحليل الى الخطوة التالية .

٩ – الأمان والأخطار والاحتياطات لا بد ان توصف جيدا .

١٠ – فى التحليل الكروماتوجرافى او الاسبكتروسكوبى او المعاير او أى طريقة اخرى يجب تحديد الظروف الدنيا المقبولة (مثل عدد المنحنيات والفصل والحساسية) . وكذلك كروماتوجرام قياس نموذجى او منحنى الطيف او المعايرة ... الخ يجب ان توضع فى طريقة التحليل للاسترشاد بها .

١١ – المعايير الحرجة للطريقة يجب ان توضع معها . اذا كانت هناك معايير اخرى مختلفة يجب توضحيها . وهذه الاختلافات يجب دراستها كلما كان ذلك ممكنا فى المعمل الرئيسى المسئول عن الدراسة المشتركة للتحليل .

١٢ – استمارة كتابة التقرير مطبوعة مسبقا وهذه يجب ان تكون مصممة جيدا بحيث تعطى بيانات كافية عند اكتمالها بما يمكن من مراجعة الحسابات التى اجريت على النتائج .

*** توزيع العينات Diskpatch of samples :**

عند تجهيز كل ما يتعلق بالدراسة يجب ارسال العينات والوثائق فى طرود منفصلة . ومن الضرورى اتباع جميع القواعد الدولية الخاصة بالنقل والتعليم للمبيدات .

*** التحليل الاحصائى للنتائج Statistical treatment of results :**

التحليل الاحصائى للنتائج يعتمد على الطريقة الموصفة فى ISO 5725-1986 (E) مع امكانية ادخال بعض التعديلات بما يتمشى مع توصيات ورشة عمل IUPAC . عند اكتمال النتائج ووصولها الى اللجنة المنظمة أو المنسق العام يجب جدولتها وتحليلها احصائيا .

**** الحسابات الاولية Preliminary calculations :**

قبل البدء فى حساب النتائج والتحقق من كفاءة التكرارية وعطاء نفس النتائج عند التكرار

يجب ان تفحص البيانات من وجهة هذه النقاط والاعتبارات :

– البيانات الزائدة Redundant data .. اذا قام احد المعامل باجراء عدد من المكررات اكبر من المطلوب يجب تدوين جميع النتائج . كذلك يجب وضع تفسير من المعمل الرئيسى عن اسباب اجراء هذه الزيادات واى نتائج يجب اخذها فى الاعتبار بسبب دقتها . اذا كانت جميع البيانات صالحة تؤخذ فى الاعتبار للتحليل الاحصائى او تختار اعداد النتائج المطلوبة باستخدام الطريقة العشوائية المتفق عليها .

– البيانات المفقودة Missing data .. فقد تفقد او تضيع بعض النتائج بسبب ضياع العينات او قطاع من التجربة . لذلك يمكن أن نتجاهل الخانات الخالية واذا أدى ذلك الى تقليل عدد المعامل المشتركة فى البرنامج يمكن وضع المتوسط الخاص بقطاع الخانة المفقودة . يقصد بالقطاع او الخانة على إنها النتيجة المتحصل عليها من القياس (١) للعينة والنتائج المتحصل عليها من القياس (٢) من العينة .

– المخرجات outliers .. تمثل المخرجات بعض اجزاء المدخلات الخاصة بنتائج الاختبار الاصلية او فى الجداول المشتقة منها التى تنحرف كثيرا عن غيرها من المدخلات التى تعتبر غير متوافقة معها . التمثيل البيانى للنتائج (مرفق – ١) يفيد فى توضيح وتمييز هذه البيانات المنحرفة وفحص البيانات يوضح ما اذا كانت المخرجات ذات معنوية كبيرة . اذا كان هناك شك فان الاختبارات تبعا لـ cochran أو / و grubbs (مرفق – ٢) يجب ان تستخدم قبل اجراء اية حسابات لاحقة .

يستخدم اختبار التباين الاقصى لكواكران Cochran's maximum variance test واختبار جربس Grubbs (و / أو اختبارات مخرجات جربس المزدوجة) وهذا الاختبار يستخدم فقط مع متوسطات نتائج المعامل وليس لكل القيم الفردية حيث ان هذه القيم لا ترتبط معا أو غير مستقلة وهذه الاختبارات تستخدم مع الخطوات التالية :

* $P > 5\ \%$ اذا كانت قيمة اختبار كوكران أو / و اختبار جربس اقل من القيمة الحرجة ى٥ ٪ يكون البند مقبولا .

* $5\ \% > P > 1\ \%$ اذا كانت قيمة الاختبار تقع بين ٥ ٪ – ١ ٪ من القيمة الحرجة تكون النتيجة معنوية ويجب وضع علامة مميزة asterisk وبذلك يكون الاختبار معنوى احصائيا .

* $P < 1\ \%$ اذا كانت قيمة الاختبار اكبر من ١ ٪ من القيمة الحرجة يكون المخزج الخصائى والاختبار عالى المعنوية .

P تمثل احتمال القيمة الملاحظة لاحصائية الاختبار .

قيمة ٥ ٪ ، ١ ٪ للكوكران وجربس موجودة ومتاحة فى الجداول (تذيل – ٢) .

فى المرحلة الأولى لتحديد الدقة يتم حساب المتوسط (×) والتكرارية (r) ودوام اعطاء نفس النتائج (R) دون إستبعاد اى بيانات أى إستخدام البيانات الصحيحة فقط . بعد ذلك يمكن استبعاد المعامل أو البيانات التى لا تتمشى نتائجها مع الاتجاه العام . يجب ايقاف استبعاد المخرجات اذا تم استبعاد ٢٢ ٪ أى ٢ من ٩ معامل .

قبل اتخاذ القرار الاولى لتحديد ما اذا كانت المخرجات التى لا تفسر أو التى لا تتمشى مع الاتجاه العام لابد من الرجوع الى المنسق العام للاختبار وعليه ان يقرر أو يفسر ما اذا كانت هذه المخرجات الشاذة بسبب اخطاء فنية أو حسابية . اذا قبلت او قدمت تفسيرات مقبولة يمكن اعتبار المخرجات حقيقية ويسمح بتصحيحها او تحفظ وتستبعد من التفسيرات . عندما يحدث مخرجات أو بيانات لا تفسر على مستويات مختلفة فى المعمل الواحد يمكن اعتبار المعمل خارج مجموعة العمل وهنا يصبح مقبولا استبعاد بعض النتائج او جميعها . على المنسق العام ان يتشاور مع مسئولى التحليل الاحصائى للاتفاق على نموذج تمثيل البيانات بعد الاستبعاد .

*** حـــــساب r (التكراريـــة) repeatability و R دوام اعـــطاء نفس النتائج Reproducibility :**

يجرى حساب r و R تبعا للطريقة القياسية الدولية المعروفة ISO 5725-1986 بارجراف ١٤ (المرجع – ٢) . عند حساب النتائج احصائيا من البيانات الموجودة فى التقرير النهائى يجب الاستفادة من جميع امكانيات الحاسب العادى أو الالى « الكمبيوتر » بدون أية تعديلات حتى نهاية التحليل والحصول على الانحرافات القياسية والمتوسطات . اذا كان حساب الانحرافات القياسية سيجرى على خطوات مع تحويل النتائج الوسطية فان عدد الارقام المعنوية التى تدخل فى حسابات المخرجات يجب ان تكون على الاقل ١ + ٢ مرة مثل عدد الارقام الموجودة فى البيانات .

*** التكرارية (r) Repeatability :**

القيم التى تحتها متوقع ان نحصل على الاختلاف المطلق بين نتائج اختبارين لمركب او عينة واحدة مع نفس الطريقة على مادة اختبار متماثلة تحت نفس الظروف (نفس القائم بالتشغيل – نفس الجهاز – نفس المعمل – وقت قصير) مع درجة احتمالات خاصة (٩٥ ٪ الا اذا نص على غير ذلك) .

*** دوام الحصول على نفس النتائج (Reproducibility (R :**

القيمة التى تحتها نحصل على القيمة المطلقة للاختلاف بين إختيارين فرديين مع نفس الطريقة وعلى مادة اختبار متماثلة تحت ظروف مختلفة (افراد مختلفين – اجهزة مختلفة – معامل مختلفة أو / و أوقات مختلفة) والتى يحتمل او يتوقع حدوثها على نسبة احتمالات ٩٥ ٪ الا اذا نص على غير ذلك .

المقصود نتيجة الاختبار الفردى القيمة المتحصل عليها من استخدام طريقة الاختبار الكاملة مرة واحدة على عينة فردية وربما تكون متوسط اثنين او أكثر من الملاحظات . يجب حساب المتوسط ($\bar{x}$) مع r ، R لكل عينة .

* العلاقة الوظيفية بين r (أو R) و $\bar{x}$:

Functional relationship between r , (or R) and x

وصف الاصدار الخاص بالمواصفات القياسية الدولية ISO 5725 عدد من الخطوات لتقدير العلاقة الوظيفية بين التكرارية r والدوام R والمتوسط x . فى طريقة السيباك CIPAC تكون المواد مشمول الدراسة ذات تركيب مختلف وتنتج من خلال عمليات انتاج مختلفة ولذلك لا توجد علاقة مؤكدة . البديل عن ايجاد هذه العلاقة هو حساب ارقام منفصلة لكل من r ، R لكل مادة قيد البحث . الاتجاه الاخير مع ما يجرى عمليا موصى به .

تقييم نتائج التحليل الاحصائى Evaluation of the statistical results :

*** تمثيل بيانات الدقة Presentation of precision data :**

بمجرد الحصول على التقرير الكامل عن العلاقات الاحصائية للنتائج تقوم الهيئة القومية أو مسئول التجربة المشتركة باتخاذ القرارات التى تجيب عن التساؤلات التالية :

- هل هناك نتائج متعارضة بسبب اى قصور فى وصف الطريقة ؟
- ما هى الإجراءات التى قد تتخذ من المعامل التى رفضت نتائجها ؟
- هل النتائج تحقق الحصول على القيم النهائية r ، R ؟
- اذا كان ذلك ممكنا ما هى القيم النهائية هذه ؟ ما هو المدى الذى من خلاله تستخدم بيانات الدقة ؟

توصى منظمة ISO النشر فى صورة جدولية كالآتى :

المدى أو المستوى	r	R
من ...... الى	....	....
من ...... الى	....	....
من ...... الى	....	....

كما توصى بوضع العلامات تحت الجدول على النحو التالى :

« البيانات الخاصة بالدقة قدرت من التجربة التى اجريت عام .... فى (......) معامل

وعند (.....) مستوى » .

* **استخدام بيانات الدقة Utilization of precision data :**

فى البداية تقرر استخدام r و R كمعايير لتقدير ما اذا كان الخلاف بين نتائج اختبارين فردين يمكن وصفه بالمتغيرات العشوائيية . الاختلاف الأكبر من r أو R مشكوك فيه ولكنه قد يعضد الاستنتاج بان هناك اختلاف معين بين نتائج الاختبارين أو يؤيد فكرة اجراء دراسات اضافية . لذلك قد يطلق على r ، R الاختلافات الحرجة critical differences . وهى تستخدم لنموذج من نتائج الاختبار على التوالى والمتحصل عليها تحت ظروف التكرارية واعطاء نفس النتائج مع تكرار التجريب .

فى بعض الاحيان يكون من الضرورى مقارنة متوسطات اثنين أو اكثر من الاختبارات أو المقارنة متوسطات السلاسل ذات القيم المعينة وفى هذه الحالات يمكن ان تشتق الاختلافات الحرجة من r و R كما ذكر وشرح فى تقرير ISO 5725 عام ١٩٨٦ الباراجراف ١٠٢٠١٩ الى ٤٠٢٠١٩ .

تحسب المعايير r ، R مع احتمالات المستوى ٩٥ ٪ اذا كانت هذه المعايير فى حاجة للتقدير عند مستويات احتمالات مختلفة قد تستخدم الطريقة فى ISO 5725 ١٩٨٦ بارجراف ١٠١٠١٩ . فى هذه الحالات يجب الاشارة الى مستويات الاحتمال بعلامة مميزة ومثال ذلك r 99 أو R 90 .

* **يمكن استخدام الاختلافات الحرجة r و R بطرق مختلفة مثل :**

- لمقارنة نتائج الاختبار المتحصل عليها لقطفة من المركب مع مواصفات هذا المركب القياسية المعروفة .
- لمقارنة نتائج الاختبار المتحصل عليها من المورد والمستهلك على نفس قطفة المركب .
- لتصميم ووضع خطوات وطرق اختبارات الجودة .

اذا اجرى اختبار مفرد فى معمل المستهلك يجب الا تختلف قيمة الاختبار مع القيمة التى حددها الصانع بمقدار لا يزيد عن ٧٠٧ و R مرة فى كل ٢٠ حالة فى المتوسط (باراجراف ٣٠٢٠١٩) . اذا قام المعمل بعمل التحليل كله فى ازواج فان الاختلاف بين القيم المتحصل عليها والقيمة التى حددها الصانع يجب الا تزيد : $0.707 \sqrt{R^2 - 0.5 r^2}$ مرة كل ٢٠ حالة

فى المتوسط و (٢,٠ بارجراف ٣٠٢٠١٩) وقد تستخدم فى تقدير وتحديد الحد الادنى المقبول minimum tolerance الذى يعلن فى اصدارات مواصفات منظمة الأغذية والزراعة FAO .

*** قبول R , r Acceptability R :**

لا بد ان يشعر الجميع خاصة المنسق العام أو اللجنة القومية بالارتياح من ملاءمة وموضوعية الارقام النهائية للتكرارية (r) واعطاء نفس النتائج عند التكرار (R) اعتمادا على الظروف الفردية . اذا لم يكن هناك طريقة اخرى ورأت اللجنة أو الهيئة ان هناك فرصة قليلة لتقليل معنوية r و R من خلال دراسات وتجارب مشتركة لاحقة فان النتائج تعامل على انها حقيقة مؤكدة عن امكانيات التجربة . وهذه يمكن ان توضع فى اى تقارير خاصة بالمواصفات القياسية specifications .

سواء كان الاقتراب البديل لتقدير ما اذا كانت طريقة التقدير مقبولة أم لا لمقارنة دوام الحصول على نفس الانحراف القياسى النسبى لنتائج الدراسة Relative standard

مع العلاقة الخطية بين لوغاريتم القاعدة – ١ للإنحراف القياسى المحسوب RSD (EXP) devdiation

ولوغاريتم تركيز المادة محل التحليل معبر عنها برقم عشرى RSD_R (calc ..)

دالة هذه العلاقة يحصل عليها من منحنى Horwitz :

$$RSD_R \text{ (calc ...) \%} = 2\,(1 - 0.5 \log c)$$

حيث c = تركيز المادة محل التحليل كرقم عشرى (مثال ذلك تركيز ١٠٠ ٪ فان c = ١) اذا كانت RSD (EXP) كما قدرت من الدراسة الخاصة بالتجربةالمشتركة لا تزيد عن RSD_R (calc ..) للتركيز المعين تكون الطريقة مقبولة . يمكن حساب الانحراف القياس النسبى لدوام الحصول على نفس النتائج RSD_R (EXP) من قيم (R) باستخدام المعادلة التالية :

$$RSD\,(EXP) = \frac{R \times 100}{2.8 \times \bar{x}}$$

حيث أن R نفسها قد حسبت تبعا لاصدار ISO 5725 عام ١٩٨٦ ، $\bar{x}$ تساوى متوسط تركيز مادة التحليل ٪ .

* **التقرير النهائى Final report** :

طريقة التحليل وأى وثائق مرتبطة بها يمكن ان تكتب فى الصورة النهائية والتقرير النهائى يجب ان يجمع موضحا ومحتويا على نتائج الدراسة وتوصيات اللجنة المسئولة . اذا كان التقرير مقبولا يرسل الى CIPAC للتقييم النهائى .

* **تذيـــل** :

١ – تمثيل بيانى للنتائج .

٢ – مخرجات الاختبارات تبعا لطريقة جربس Grubbs

References المراجع

(1) IUPAC Recommendations on the harmonization of Collaborative Analytical Studies, Geneva, Switzerland, (1987).

(2) International Standard ISO 5725-1986 (E). Precision of test methods - Determination of repeatability and reproducibility by inter-laboratory tests. Second edition.

(3) JAOAC, 71, 161, (1988), 4th final Draft.

(4) ISO - kGuide 18 - 1978 (E) Layout for a standard method of chemical analysis.

(5) F.E. Grubbs and G.Beck, Technometrics, 14, (1972), 847.

(6) W. Horwitz, Anal. Chem., 54, (k1982), 67A.

(7) K. W. Boyer, W. horwitz, R. albert, Anal. Chem., 57, (1985), 454.

This document was originally formulated as CIPAC 3092 by Mr. D.S. Farrington, MAFF, Starcross, Devon, England, and revised as CIPAC 3426 by Mr. P. Baker, ICI, Yalding, Kent, England.

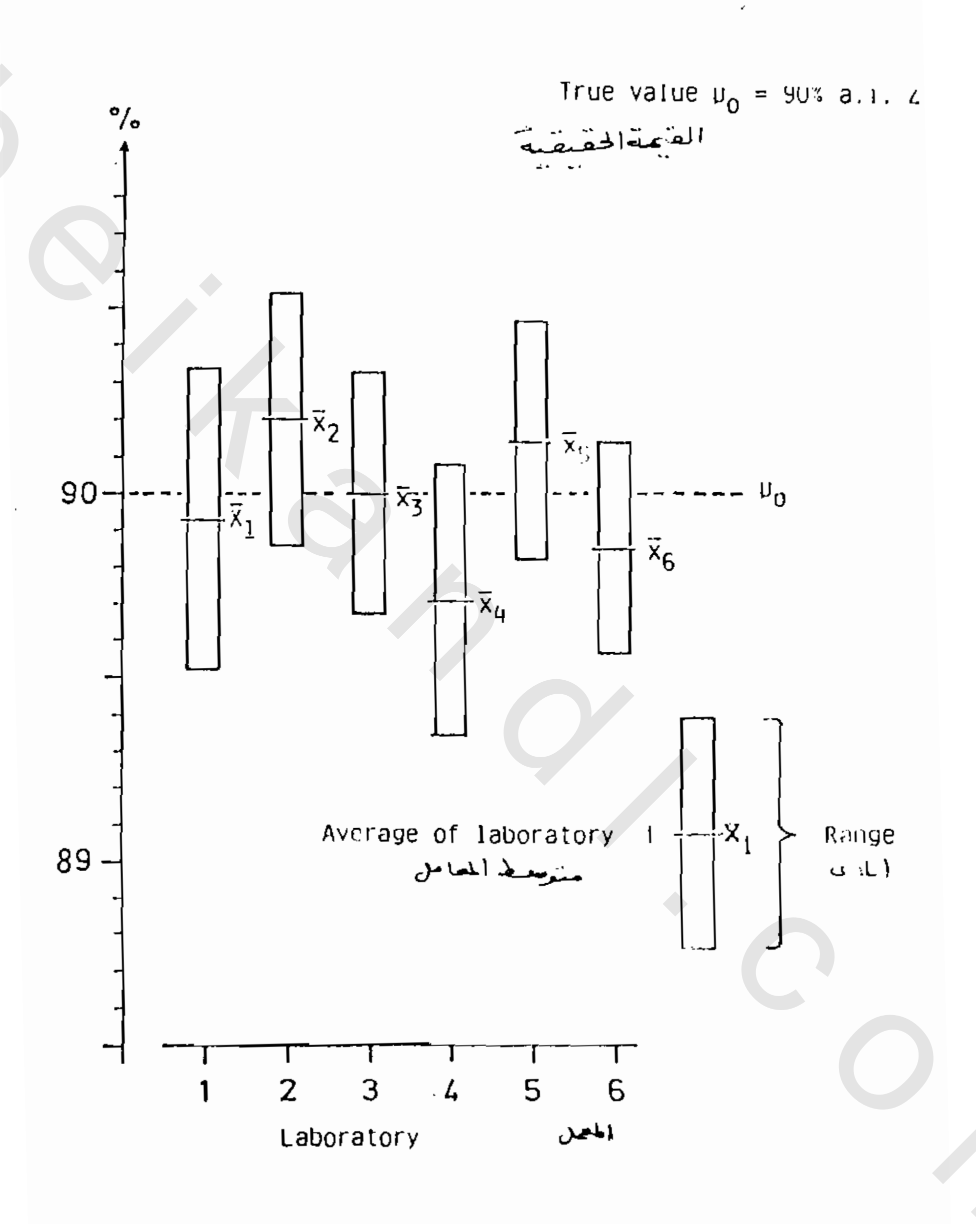
Mr. P. Bakekr, ICI, Yalding, kent, England, Dr. N.C. Franklin and Dr. K. pavel, Bayer AG, Leverkusen, West Germany, prepared the final version submitted to CIPAC in May 1989.

APPENDIX 1

تذييل (١)

GRAPHICAL PRESENTATION OF RESULTS

التمثيل البيانى للنتائج



APPENDIX 2

تذييل (٢)

The Outlier Tests according to Grubbs (5)

1 - Calculation of the Test Value r" $_{lower}$ and r" $_{upper}$.

Arrange the individual laboratory averages x_i in ascending order :

$x_{(1)}$ = smallest laboratory value.

$x_{(n)}$ = largest laboratory value.

Calculatc thc total mean, x and standard deviation, s.

Calculate the diference between :

the total mean and the smallest laboratory average value

$$= x - x_{(1)}$$ and

thc total mean and the largest laboratory average value

$$= x (n) - x$$

Compare the two differences, and with the largest difference calculate :

$$r'' \text{ lower} = \frac{x - x(1)}{s}$$

$$r\text{æ upper} = \frac{x(n) - x}{s}$$

These test values r" lower or r" upper are compared with the corrc-sponding tabulated critical values r a, n d(see Tables).

2 - Evaluation

If

ræ $_{lower}$ > r α, n

or

r" $_{upper}$ > r α, n

Then the extreme value checked, x (1) or x (n) is an outlier at a probability value of ad. It is recommended that a probability value of α = 0.01 should be taken for the testing of the total values.

Table

Critical values $r_{\alpha ; n}$ for the Grubbs outlier test.

Two - sided test					
n	a	0.10	0.05	0.20	0.01
	3	1.153	1.155	1.155	1.555
	4	1.463	1.481	1.492	1.496
	5	1.672	1.715	1.749	1.764
	6	1.822	1.887	1.944	1.973
	7	1.938	2.020	2.097	2.139
	8	2.032	2.126	2.221	2.274
	9	2.110	2.215	2.323	2.387
	10	2.176	2.290	2.410	2.482
	11	2.234	2.355	2.485	2.564
	12	2.285	2.412	2.550	2.636
	13	2.331	2.462	2.607	2.699
	14	2.371	2.507	2.659	2.755
	15	2.409	2.594	2.705	2.806
	16	2.443	2.585	2.747	2.852
	17	2.475	2.620	2.785	2.894
	18	2.504	2.651	2.821	2.932
	19	2.532	2.681	2.854	2.968
	20	2.577	2.709	2.884	3.001
	21	2.580	2.733	2.912	3.031
	22	2.603	2.758	2.939	3.060
	23	2.624	2.781	2.963	3.087
	24	2.644	2.802	2.987	3.112
	25	2.663	2.822	3.009	3.135
	26	2.681	2.841	3.029	3.157
	27	2.698	2.859	3.049	3.178
	28	2.714	2.876	3.068	3.199
	29	2.730	2.393	3.085	3.218
	30	2.745	2.908	3.103	3.236
n	$\alpha/2$	0.05	0.052	0.01	0.005
One - sided test					

Modified table according to F.E. Grubbs and G. Beck Technometrics vol. 14 (1972) pp. 847 et seq.

Table (continued)

Critical values $r_{\alpha ; n}$ for the Grubbs outlier test.

Two - sided test					
n	a	0.10	0.05	0.20	0.01
	31	2.759	2.924	3.119	3.253
	32	2.773	2.938	3.135	3.270
	33	2.786	2.952	3.150	3.286
	34	2.799	2.965	3.164	3.301
	35	2.811	2.979	3.178	3.316
	36	2.823	2.991	3.191	3.330
	37	2.835	3.003	3.204	3.343
	38	2.846	3.014	3.216	3.356
	39	2.857	3.025	3.228	3.369
	40	2.866	3.036	3.240	3.381
	42	2.887	3.057	3.261	3.404
	44	2.905	3.075	3.282	3.425
	46	2.923	3.094	3.302	3.445
	48	2.940	3.111	3.319	3.464
	50	2.956	3.128	3.336	3.483
	52	2.971	3.143	3.353	3.500
	54	2.986	3.158	3.368	3.516
	56	3.000	3.172	3.383	3.531
	58	3.013	3.186	3.397	3.546
	60	3.025	3.199	3.411	3.560
	65	3.055	3.230	3.442	3.592
	70	3.082	3.257	3.471	3.622
	75	3.107	3.282	3.496	3.648
	80	3.130	3.305	3.521	3.673
	85	3.151	3.327	3.543	3.695
	90	3.171	3.347	3.563	3.716
	95	3.189	3.365	3.582	3.736
	100	3.207	3.383	3.600	3.754
n	$\alpha /2$	0.05	0.052	0.01	0.005
One - sided test					

Modified table according to F.E. Grubbs and G. Beck Technometrics vol. 14 (1972) pp. 847 et seq.

CIPAC COLLABORATIVE STUDY PROTOCOL

FORMATION OF PANEL
OR APPOINTMENT OF STUDY COORDINATOR
↓
CHOOSE ANALYTICAL METHOD
↓
ESTABLISH METHOD PARAMETERS
↓
PILOT TRIAL
↓
ASSESS RESULTS ---------------- unsuitable
↓
SET PARAMETERS FOR FULL TRIAL
↓
RECRUIT LABORATORIES
↓
OBTAIN SAMPLES AND SUBDIVIDE
↓
CRITICALLY EXAMINE METHOD
AND PROGRAMME OF WORK
↓
SET DEADLINE FOR RETURN OF RESULTS
↓
TABULATE RETURNED DATA
↓
SORT REDUNTANT AND MISSING DATA
↓
CHECK FOR AND ACT ON OUTLIERS
↓
CALCULATE r AND R
↓
ASSESS SUITABILITY OF METHOD
↓
PRODUCE FINAL METHOD AND
REPORT FOR CIPAC ASSESSMENT

الفصـــل الـرابـــع

– الجيفاب ومخلفات مبيدات الآفات فى الماء

Gifap position paper on pesticide residues in water.

* مقدمـــة Introduction
* الحصر الاستكشافى Monitoring surveys
* تقييم الاخطار الصحية Assessment of health risks
* تقييم المخاطر البيئية Environmental risk assessment
* العمليات الزراعية الجيدة Good agricultural practices
* التوصيات Recommendations



الجيفاب ومخلفات مبيدات الآفات في الماء

GIFAP position paper on pesticide residues in water

* مقدمـــــة Introduction :

تلعب المبيدات دورا هاما فى انتاج الغذاء والالياف ولتحقيق هدف هذه المركبات تستخدم بشكل متخصص فى الزراعة . ولقد اوضحت التجارب ان كميات صغيرة من المبيدات قد تجد طريقها الى المصادر المائية من جراء انجراف قطرات الرش وجريان الماء وحركتها الى المياه الارضية والجوفية وقد تصل المبيدات الى المصادر المائية من جراء التلوث العرضى الناجم عن سوء التطبيق والقاء بقايا المبيدات فى المياه ... الخ .

هناك معيارين لعلاقة المبيدات فى الماء وعامة الناس الأول يتمثل فى الاخطار الصحية لمخلفات المبيدات فى ماء الرش والثانى يتمثل فى تأثير المبيدات على الأحياء المائية . للوقوف على حقيقة الموضوع يجب الحصول على معلومات عن تركيز كل مركب على حدة فى المصادر المائية (من خلال الحصر الاستكشافى monitoring surveys والسمية الاساسية لهذه المبيدات على الانسان والكائنات المائية (خاصة السمك واللافقاريات والطحالب) . لحسن الحظ ان غالبية المبيدات موجود عنها بيانات كافية لعمل تقييم مخاطرها الصحية والبيئة بما يمكن من تخطيط برامج مستنيرة لتحجيم المشكلة وتقليل الاخطار .

* الحصر الاستكشافى Monitoring surveys :

فى السنوات الأخيرة اضطلعت العديد من الهيئات بمهمة ومسئولية استكشاف وجود الكيميائيات فى الماء السطحى والارضي مع اخذ موقف مصادر مياه الشرب فى الاعتبار . لخطورة هذه الدراسات يجرى استكشاف المبيد بواسطة الوكالات الحكومية وموردى المياه وصانعى الكيميائيات الزراعية فى مختلف مناطق العالم خاصة شمال امريكا واوربا الغربية . تجرى هذه الدراسات فى البلدان ذات الزراعات الكثيفة وكذلك فى المناطق التى فيها طوبوغرافية ارضية تسمح بحركة المياه الملوثة بالمبيدات الى مصادر المياه الارضية .

تتطلب دراسات الاستكشاف هذه تطوير طرق تحليل عالية الحساسية والتخصص الفائق لتقدير آثار المبيدات فى الماء فى حدود تركيزات ٠,١ لتر/ ميكروجرام (جزء فى البليون) . لقد اوضحت نتائج الاستكشاف عدم وجود المبيدات فى معظم العينات التى حللت ومثال ذلك ما حدث فى المانيا عام ١٩٨٦ حيث تم تحليل ١٣,٠٠٠ عينة مياه من ٢٠٦ بئر وقد وجد ان اقل من ٠,٥ ٪ تحتوى مبيد أو أكثر اعلى فى التركيز من ٠,١ ميكروجرام / لتر (جزء فى البليون) . ولقد تحصل على نفس النتيجة فى المياه الارضية والسطحية فى فرنسا والولايات المتحدة الامريكية وسويسرا ، كما لوحظت اختلافات فى العينات المجموعة من المنطقة أو البلد الواحدة .

يمكن القول بصفة عامة ان المبيدات لا تصل للمياه الارضية على مستويات اعلى من ٠,١ ميكروجرام / لتر اذا ما استخدمت تبعا للتوصيات مع اتباع الطرق المناسبة للتطبيق المناسب بناء على التعليمات . اذا اجتمعت ظروف معينة مثل التربة الغير متماسكة وجداول مياه ضحلة واستخدامات مباشرة للمبيدات فى المياء تزيد من احتمالات تواجد آثار من المبيدات فى الماء الجوفى خاصة مع المبيدات عالية الذوبان .

* تقييم الاخطار الصحية Assessment of health risks :

اظهر الكشف عن آثار المبيدات فى المياه سواء من خلال التواجد العرضى الطبيعى أو المتعمد عدم حدوث ضرر بالضرورة على صحة الانسان . كما سبق القول يجب ان يؤخذ فى الإعتبار ان سمية المبيد وتركيزه فى الماء عند تقييم المخاطر على صحة الانسان . لتسجيل اى مبيد تجرى دراسات مكثفة عن الأمان ويشترط ان تقدم الشركة المنتجة جميع البيانات الخاصة بالسمية . بسبب وجود اختلافات فى التأثيرات التوكسيكولوجية بين المركبات ذات التركيبات الكيميائية المختلفة لذلك وجب تقييم المخاطر لكل مبيد على حدة وحالة بحالة كما هو متبع مع مخلفات المبيدات فى الغذاء . تضطلع العديد من الوكالات مثل منظمة الصحة العالمية (WHO) ووكالة حماية البيئة الامريكية (EPA) وتحدد السمية النوعية لكل مركب . والعديد من الجهات الرسمية المسئولة عن سلامة المياه تحدد حدودا ضئيلة جدا لتواجد المبيدات والا كانت المياه غير صالحة للاستهلاك الآدمى . ومثال ذلك ادارة مياه الشرب فى دول الكومنولث DRINKING WATER DIRECTIVE بالقانون EC D(80/778/EEC) التى تنص على عدم السماح بتواجد اى مبيد عند مستوى اعلى من ٠,١ ميكروجرام لكل لتر ماء كما ان التركيز الكلى لجميع انواع المبيدات فى الماء يجب الا تزيد عن ٠,٥ ميكروجرام / لتر . تغطى هذه التعليمات والحدود مدى واسع من المواد اذا كانت مقسمة الى مجموعات الا ان بعض الكيميائيات ذات حدود معينة تختلف عن بعضها البعض ومثال ذلك الزئبق ١,٠ ميكروجرام / لتر ، الكادميوم ٥ ميكروجرام / لتر ، الزرنيخ ٥٠ ميكروجرام / لتر ، السيانيد ٥٠ ميكروجرام / لتر بناء على السمية المميزة لكل منها . يعتقد مسئولى الجيفاب بضرورة معاملة كل مبيد على حدة وليس كمجاميع مع بعضها . منظمة الصحة العالمية WHO وضعت حدود للتناول اليومى المقبول Acceptable daily in-take (ADI) للمبيدات فى مياه الشرب وقد وضعت الجيفاب دليل لمياه الشرب والمبيدات بناء على حد التناول اليومى يتفق لحد كبير مع WHO و ADI يعنى التناول اليومى المقبول من المبيد الذى يمكن تناوله يوميا بواسطة شخص طوال فترة حياته بدون حدوث اى ضرر بناء على جميع الحقائق المؤكدة والمعروفة .

تقييم المخاطر البيئية Environmental risk assessment :

كما هو الحال مع الاخطار الصحية يجب اجراء سلاسل من الدراسات البيئية واستكمالها قبل التوصية باستخدام المبيد وهذه تشمل الذوبان فى الماء والتحرك فى الانواع المختلفة من الاراضى

ومعدلات الثبات والانهيار فى التربة والسمية على الاسماك وغيرها من الكائنات والأحياء المائية . ومثال ذلك تجرى الدراسات على الاحياء المائية فى البداية فى المعمل على انواع مختلفة من الاسماك وغيرها من الكائنات المائية مثل براغيث الماء والطحالب . واذا اقتضت الضرورة تؤخذ قناة مائية أو مستنقع كبير كوحدة اختبار لمحاكاة البيئات المائية الطبيعية مع التأكد من مواصفات طرق الكشف وكذلك تركز الجهود بقدر الامكان عن التأثيرات على السلاسل الغذائية بداية من الكائنات الدقيقة والمفترسات وحتى الاسماك والطيور التى تفترسها .

من الممكن عمل تنبؤات بناء على مواصفات الكيميائيات ومجالات الاستخدام للحصول على معلومات عن مدى امكانية وصول المركب للماء السطحى أو الارضى والتأثيرات التى تحدثها . والمرجع رقم (٤) يوضح اسس الدراسات المعملية والحقلية بناء على تجارب كل مبيد على حدة ودور كل عامل والعوامل المشتركة معا وهذا ضرورى الاجراء قبل التوصية بتسجيل المركب . ان عملية تقييم المخاطر الناجمة من المبيدات عملية معقدة وتضطلع الشركات المنتجة للكيمائيات الزراعية بمسئوليات الحصول على معلومات كافية من جراء الدراسات الخاصة بتحديد اثر العوامل المختلفة على سلوك المبيدات التى تصل للمصادر المائية والعمليات التى تجرى فى طبقات التربة العميقة وكذلك المياه الجوفية مع أخذ ما يحدث للمبيدات فى الاعتبار . وتتراوح الدراسات من دراسة الاساسيات والتقنيات وحتى الاستكشاف مع التطبيق الفعلى . هذا يمكن اجراؤه من خلال مشاريع مشتركة بين مصانع المياه والحكومات والاكاديميات العلمية .

* العمليات الزراعية الجيدة Good agricultural practices :

يجب التأكيد على الفرق بين إستخدام المبيدات تبعا لتعليمات العمليات الزراعية الجيدة (GAP) والاستخدام غير المناسب او التخلص غير المناسب DISPOSAL . بالطبع تكون احتمالات وصول المبيد الى المياه السطحية أو الجوفية كبيرة فى حالات الاستخدام الغير مناسبة والمرجع (٤) يوضح القياسات العملية لتحديد نقاط التلوث وعدمه فى حالة وجود المبيدات فى المياه على مستويات غير مقبولة وجب اخذ طرق ازالة المخلفات والتخلص منها . وهناك طرق متعددة لازالة المبيدات من مياه الشرب وضعتها الجيفاب (المرجع – ٥) .

* التوصيات Recommendations :

١ – تستخدم جميع بيانات السمية « التوكسنيكولوجى » المتاحة لتقييم معنوية وجود تركيزات المبيدات فى مياه الشرب ووضع قيم التناول اليومى المقبولة .

٢ – استمرار المجهودات لتعضيد اجراءات واتباع العمليات الزراعية المناسبة لحماية المصادر المائية من التلوث . هذه تشمل برامج التدريب والتعليم لمتداولى وتجار المبيدات والفلاحين وهذه تجرى من خلال برامج ارشادية وتوعية مشتركة مع الهيئات المختلفة .

٣ - استمرار اتاحة طرق التحليل لكل السلطات المسئولة عن المياه لتنفيذ برامج الاستكشاف الخاصة بمخلفات المبيدات فى المياه .

٤ - ضرورة اخذ احتمالات تلوث الماء الارضى عند تسجيل مبيد جديد للتأكيد من استمرار تحقيق الفوائد فى الانتاج الزراعى من جراء استخدام المبيدات .

المراجـــــع

1 . Water Quality Monitoring - Site Selection and Sampling procedures for Pesticide Analysis.

2 - World Health Organization. Guidelines for Drinking Water Quality, WHO, Geneva, 1984.

3 - GIFAP Position Paper on the Toxicological Evaluation of Pesticides in Drinking Water (1988).

4 - GIFAP Guide on the Prevention and Reduction of Pesticide Residues in groundwater through Good Agricultural Management Practices (1989).

5 - Removal of pesticides from Drinking Water.

GIFAP Technical Monograph No. 5 (1990).